

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE CIENCIAS FÍSICO-MATEMÁTICA



**Obtención de hojas de óxido de grafeno
para el desarrollo de nanocompositos
poliméricos**

T E S I S

Que para obtener el grado de:

Doctora en Ingeniería Física Industrial

Presenta

Claramaría Rodríguez González


San Nicolás de los Garza, N.L.

2012


UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE CIENCIAS FÍSICO-MATEMÁTICAS
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

Los miembros del comité recomendamos que la tesis titulada "Obtención de hojas de óxido de grafeno para el desarrollo de nanocompositos poliméricos" realizada por Claramaría Rodríguez González, sea aceptada para su defensa como opción al grado de Doctora en Ingeniería Física Industrial.

El comité de Tesis




Asesora
Dra. Oxana Vasilievna Kharissova

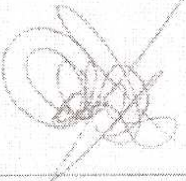


Co-asesor
Dr. Víctor Manuel Castaño Meneses

Primer Vocal
Dr. Carlos Velasco Santos



Segundo Vocal
Dr. Carlos Luna Criado



Tercer Vocal
Dr. Romeo de Jesús Selvas Aguilar

Obtención de hojas de óxido de grafeno para el desarrollo de nanocompositos poliméricos

T E S I S

Que para obtener el grado de:

Doctor en Ingeniería Física Industrial

Presenta

Claramaría Rodríguez González

Asesora:

Dra. Oxana Vasilievna Kharissova

Co-asesores:

Dr. Víctor Manuel Castaño Meneses

Dr. Carlos Velasco Santos

Dedicatoria

A mi madre, por su ilimitado amor y sacrificio y por tan bondadoso
sustento.

A mi padre, por haberme inculcado la importancia de la educación,
del libre pensamiento y por ayudarme a alcanzar mis sueños.

A Gerardito, por enseñarme un lenguaje colmado de belleza y por
iluminar mi vida con pinceladas de sabiduría.

A mis hermanos que en las buenas y en las malas siempre saben
responder.

A mis sobrinas para quienes deseo un mundo libre de ignorancia.

Agradecimientos

A mi asesora la Dra. Oxana Vasilievna Kharissova por orientar y soportar mi investigación aquí en la Universidad Autónoma de Nuevo León.

A mi co-asesor el Dr. Víctor Castaño Meneses por haber creído en mí.

A mi co-asesor el Dr. Carlos Velasco Santos por su invaluable guía y paciencia.

Al CONACyT por el soporte económico.

Nada de este trabajo podría haberse concretado sin el valioso apoyo de:

M.C. Lourdes Palma Tirado por su amable asistencia en la Microscopia Electrónica de Transmisión.

Francisco Rodríguez Melgarejo por su invaluable apoyo en las medidas Raman.

La Dra. Carmen Aceves por su amable apoyo.

María Guadalupe Delgado por su asistencia en la cuantificación de proteína por el método de Bradford.

La Dra. Genoveva Hernández Padrón por su asistencia en la espectroscopia Infrarroja.

La M. C. Alicia del Real por su asistencia en la Microscopia de Barrido Electrónica.

Al Dr. Pedro Salas por su disposición para ayudar.

Extiendo mis agradecimientos a mis entrañables amigos Lissette Aguilar, Luis Gerardo Silva Vidaurri, Guadalupe Martínez, Xicotencatl López, Erika Lozano, Aarón Arévalo, Darío Calderón y a todos aquellos con quienes tuve la fortuna de coincidir.

Resumen

En este trabajo de tesis nosotros presentamos la síntesis y caracterización de grafeno oxidado obtenido a partir de la oxidación del grafito. El grafeno oxidado fue ulteriormente injertado covalentemente con queratina obtenida a partir de la pluma de pollo. El óxido de grafeno modificado fue sintetizado utilizando una reacción de reducción-oxidación en un medio ácido y caracterizado utilizando espectroscopias Infrarroja (FTIR) y Raman, espectroscopia de dispersión de energía (EDS), Microscopia de fuerza atómica (AFM) y Microscopia de Transmisión Electrónica (TEM). El comportamiento dispersivo de esta estructura decorada fue observado en un par de solvente con polaridad opuesta y la cuantificación del injerto se efectuó mediante el ensayo de Bradford. Finalmente, grafeno oxidado y grafeno oxidado injertado con queratina fueron empelados como nanorefuerzos en las matrices poliméricas naturales quitosano/almidón y carboximetil celulosa/almidón. Estos nanocompositos fueron sintetizados mediante el método moldeado/evaporación del solvente y caracterizados utilizando espectroscopias Infrarroja y Raman, Microscopia de Barrido Electrónico (SEM) y Análisis Dinámico Mecánico (DMA). Nuestro estudio reveló que la compatibilidad entre el grafeno y la matriz anfitriona desempeñan un papel fundamental en el control fino de la interfase y en la manipulación de las propiedades finales del material.

Abstract

In this thesis we present the synthesis and characterization of graphene oxide obtained from graphite oxide. Graphene oxide was subsequently covalently grafted with keratin obtained from the chicken feather. The graphene oxide modified was synthesized using a redox reaction in acidic media and characterized using FT-IR and Raman spectroscopies, energy dispersive spectroscopy (EDS), Atomic Force Microscopy (AFM) and Transmission Electron Microscopy (TEM). Dispersive behavior of this decorated structure was observed in a pair of opposite polarity solvents and the quantification of the keratin grafting was done using the Bradford assay. Finally, graphene oxide and graphene oxide grafting with keratin were used as fillers in the natural polymers chitosan/starch and carboxymethyl cellulose/starch. These nanocomposites were synthesized by the method casting/solvent evaporation and characterized using FTIR and Raman spectroscopies, Scanning Electron Microscopy (SEM) and Dynamic Mechanical Analysis (DMA). Our study showed that the compatibility between the graphene and the host matrix play a key role in the fine control of the interface and in the manipulation of the final properties of the material.

Prefacio



Si este trabajo de tesis hubiese sido escrito con lápiz, uno no creería que la primera de sus letras serviría para algo más que para estructurar las palabras de una idea. Sorpresivamente, esta letra estaría compuesta del material más delgado y resistente conocido. Las redes que lo conforman admiten grandes deformaciones sin romperse y su estructura hexagonal facilita el desplazamiento de sus electrones a velocidades tan altas que estos semejan balas. Sus laminillas, de tan solo un átomo de grosor, lo confirman como una estructura verdaderamente bidimensional donde ambos lados de su superficie pueden ser funcionalizadas, inaugurando, con esto, un área exquisita en la síntesis de nuevas moléculas híbridas.

Las impresionantes propiedades de nuestra hipotética letra se deben a un material recientemente obtenido: el grafeno. Esta nanoestructura se produce, de forma burda, mediante la exfoliación generada por el arrastre del grafito sobre una hoja de papel. Los investigadores que lograron asilarlo por vez primera perfeccionaron el proceso de exfoliación utilizando cinta adhesiva para descascararlo y, posteriormente, mediante frotado, hacerlo visible sobre una oblea de silicio. A la fecha, diversas estrategias han sido desarrolladas para obtenerlo en grandes cantidades. No obstante, la más promisoría es la que parte del grafito oxidado.

Las propiedades del grafeno, distintas a las de cualquier otro material, abren la puerta a una miríada de aplicaciones; sin embargo, la síntesis de nanocompositos poliméricos con propiedades diseñadas a la medida es, quizá, el área más efervescente de investigación y donde el grafeno oxidado y sus derivados funcionalizados encuentran su mayor aplicación.

El avance más considerable en los materiales compuestos reforzados con grafeno se ha dado utilizando polímeros sintéticos. Empero, el uso excesivo de estos derivados fósiles ha provocado un profundo impacto en términos de huella ecológica y, por tanto, la necesidad de sustituirlos por otros menos dañinos se ha vuelto imperativo.

Congruentes con esta demanda ambiental, en este trabajo utilizamos polímeros naturales, a saber, quitosano, almidón y carboximetil celulosa los cuales son biodegradables, biocompatibles, no tóxicos, económicos y renovables. Mejoramos sus características mecánicas al reforzarlos con grafeno oxidado y grafeno oxidado injertado con queratina, la cual, a su vez, fue extraída de una interesante fuente: la pluma de pollo. Los resultados son, por demás, satisfactorios.

Este trabajo fue organizado en cuatro partes.

El **Capítulo 1** proporciona los fundamentos teóricos sobre el grafeno, su estructura y propiedades, métodos de obtención y aplicaciones. Así mismo, provee una panorámica sobre los biopolímeros, concretamente los polisacáridos, utilizados como matriz en este trabajo. El **Capítulo 2** describe la metodología para la obtención del grafeno oxidado, su funcionalización superficial con queratina y el protocolo de síntesis para los nanocompositos. En este mismo orden de ideas provee los fundamentos de las técnicas que nos permitieron caracterizar estos materiales. En el **Capítulo 3** se presentan a detalle los resultados obtenidos y su análisis. Finalmente, el **Capítulo 4** provee las conclusiones y detalla algunas mejoras a realizar en trabajos futuros.

Índice

Agradecimientos.....	I
Resumen.....	II
Abstract.....	III
Prefacio.....	IV

1. FUNDAMENTOS

1.1. El carbono.....	1
1.1.1. La estructura del átomo de carbono.....	1
1.1.1.1. Hibridación sp^3 del carbono.....	2
1.1.1.2. Hibridación sp^2 del carbono.....	2
1.1.1.3. Hibridación sp del carbono.....	2
1.1.2. Formas alotrópicas del carbono.....	4
1.1.2.1. Una breve mirada a los alótropos de carbono.....	4
1.2. El grafeno.....	6
1.2.1. Propiedades del grafeno.....	8
1.2.1.1. Propiedades electrónicas del grafeno.....	8
1.2.1.1.1. Estructura de bandas poco convencional.....	9
1.2.1.1.2. Movilidad electrónica inusual: Transporte balístico.....	10
1.2.1.1.3. Los portadores de carga pierden su masa.....	11
1.2.1.2. Propiedades mecánicas del grafeno.....	11
1.2.1.3. Propiedades térmicas del grafeno.....	12
1.2.1.4. Propiedades químicas del grafeno.....	13
1.2.2. Aplicaciones del grafeno.....	13
1.2.3. Métodos de obtención del grafeno.....	14
1.2.3.1. Grafeno obtenido a partir de grafito oxidado.....	17
1.2.3.1.1. Reducción química de grafeno oxidado.....	18
1.2.3.1.2. Reducción térmica de grafeno oxidado.....	19
1.3. Grafeno oxidado.....	20
1.3.1. Funcionalización del grafeno oxidado.....	20
1.3.1.1. Interacción covalente.....	20
1.3.1.1.1. Funcionalización covalente sobre los ácidos carboxílicos del grafeno oxidado.....	20
1.3.1.1.1.1. Método “grafting to”.....	21
1.3.1.1.1.2. Método “grafting from”.....	21
1.3.1.1.2. Funcionalización covalente sobre los grupos epóxidos del grafeno oxidado.....	21
1.3.1.2. Interacción no covalente.....	22
1.3.2. Hojas de óxido de grafeno injertadas covalentemente con queratina extraída de la pluma de pollo.....	22
1.4. Materiales nanocompuestos: principal área de aplicación del grafeno funcionalizado.....	24

1.4.1	Nanocompositos poliméricos reforzados con grafeno oxidado.....	24
1.4.1.1	Matrices poliméricas sintéticas.....	25
1.4.1.2	Matrices poliméricas naturales.....	26
1.4.1.2.1	Polisacáridos.....	26
1.4.1.2.1.1	Almidón.....	27
1.4.1.2.1.2	Carboximetil celulosa: derivado hidrosoluble de la celulosa.....	28
1.4.1.2.1.3	Quitosano: el derivado deacetilado de la quitina.....	29
	HIPÓTESIS.....	31
	OBJETIVO GENERAL.....	31
	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	31

2 METODOLOGÍA Y CARACTERIZACIÓN ESTRUCTURAL

2.1	Metodología para la obtención de hojas de óxido de grafeno.....	32
2.1.1	Grafito.....	32
2.1.2	Preparación de grafito oxidado.....	32
2.1.3	Obtención de suspensiones de hojas de óxido de grafeno.....	33
2.2	Extracción de queratina presente en la pluma de pollo.....	34
2.2.1	Obtención de queratina dializada.....	35
2.3	Hojas de óxido de grafeno injertadas covalentemente con queratina.....	36
2.4	Cuantificación de queratina injertada en hojas de óxido de grafeno.....	37
2.5	Protocolo para la elaboración de nanocompositos.....	40
2.5.1	Síntesis del nanocomposito quitosano-almidón.....	40
2.5.2	Síntesis del nanocomposito carboximetil celulosa-almidón...41	
2.6	Caracterización en la escala nanométrica.....	43
2.6.1	Espectroscopia.....	43
2.6.1.1	Espectroscopia Infrarroja con transformada de Fourier.....	43
2.6.1.2	Espectroscopia Raman.....	45
2.6.2	Técnicas de microscopia.....	46
2.6.2.1	Microscopia electrónica.....	46
2.6.2.1.1	Microscopia electrónica de transmisión (TEM).....	46
2.6.2.1.2	Microscopia electrónica de barrido (SEM).....	48
2.6.2.1.2.1	Espectroscopia de rayos X de energía dispersiva (EDS).....	49
2.6.2.2	Microscopia de campo cercano.....	50

2.6.2.2.1 Microscopia de fuerza atómica (AFM).....	50
2.7 Análisis térmico.....	51
2.7.1 Análisis Dinámico Mecánico (DMA).....	52

3 ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

3.1 Grafito oxidado.....	54
3.1.1 Espectroscopia de dispersión de energía (EDS).....	54
3.1.2 Difracción de rayos X (DRX).....	56
3.1.3 Microscopia electrónica de barrido de alta resolución (HRSEM).....	58
3.2 Hojas de óxido de grafeno.....	59
3.2.1 Espectroscopia Infrarroja (FT-IR).....	59
3.2.2 Espectroscopia Raman.....	61
3.2.3 Microscopia de fuerza atómica (AFM).....	63
3.2.4 Microscopia de transmisión electrónica (TEM).....	64
3.2.5 Microscopia de barrido electrónico (SEM).....	66
3.3 Hojas de óxido de grafeno injertadas covalentemente con queratina....	67
3.3.1 Comportamiento dispersivo de las hojas de grafeno injeradas con queratina.....	68
3.3.2 Espectroscopia Infrarroja (FT-IR).....	69
3.3.3 Espectroscopia Raman.....	70
3.3.4 Espectroscopia de dispersión de energía (EDS).....	71
3.3.5 Microscopia de Fuerza Atómica (AFM).....	72
3.3.6 Microscopia de Transmisión Electrónica (TEM).....	73
3.4 Cuantificación de la proteína injertada.....	77
3.5 Matrices poliméricas naturales reforzadas con grafeno oxidado y grafeno oxidado injertado con queratina.....	78
3.5.1 Espectroscopia Infrarroja (FTIR) de las películas reforzadas Q/A y CMC/A.....	80
3.5.2 Espectroscopia Raman de las películas reforzadas Q/A y CMC/A.....	84
3.5.3 Microscopia electrónica de barrido de los nanocompositos Q/A y CMC/A.....	88
3.5.4 Análisis Dinámico Mecánico de los nanocompositos Q/A y CMC/A.....	92

4 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	96
---------------------------------------	----

REFERENCIAS.....	99
------------------	----

Lista de tablas

Tabla 1.1	Hibridación de orbitales en el átomo de carbono.....	3
Tabla 1.2	Clasificación de los alótropos del carbono.....	4
Tabla 2.1	Métodos colorimétricos para la cuantificación de proteína.....	38
Tabla 2.3	Preparación de las muestras problemas para la cuantificación de proteína.....	39
Tabla 2.4	Cantidades y reactivos para realizar la curva patrón para cuantificar proteínas.....	39
Tabla 3.1	Nomenclatura y descripción de las películas quitosano/almidón/grafeno oxidado.....	79
Tabla 3.2	Nomenclatura y descripción de las películas carboximetil celulosa/almidón/grafeno oxidado.....	79
Tabla 3.3	Resumen de las bandas infrarrojas del grafeno oxidado, la película prístina Q/A y los nanocompositos Q/A/GO, Q/A/GOIQ11 y Q/A/GOIQ21.....	81
Tabla 3.4	Resumen de las bandas infrarrojas del óxido de grafeno, la película prístina carboximetil celulosa/almidón y los nanocompositos CMC/A/GO, CMC/A/GOIQ11, CMC/A/GKGO21.....	83
Tabla 3.5	Posiciones y asignamientos de las bandas Raman características de la película prístina Q/A y películas reforzadas con GO, GOIQ1 y GOIQ2 a 0.1% en peso.....	85
Tabla 3.6	Posiciones y asignación de las bandas Raman características de la película prístina CMC/A y de las películas nanocompuestas reforzadas con GO, GOIQ1 y GOIQ2 a 0.1% en peso.....	87

Lista de figuras

Figura 1.1 Línea de tiempo de la investigación en alótropos de carbono.....	6
Figura 1.2 Representación de la estructura bidimensional del grafeno.....	7
Figura 1.3 Electrones no localizados en el grafeno.....	8
Figura 1.4 Estructura de bandas electrónicas para metales, semiconductores, aislantes y grafeno.....	9
Figura 1.5 Movilidad electrónica.....	10
Figura 1.6 Representación esquemática de una sábana de grafeno admitiendo tensiones elevadas y mostrando flexibilidad de manera simultánea.....	12
Figura 1.7 Esquema general de los métodos de producción de grafeno.....	16
Figura 1.8 Procedimiento experimental para la obtención de dispersiones coloidales de hojas de óxido de grafeno.....	17
Figura 1.9 Representación esquemática de una hoja de óxido de grafeno.....	18
Figura 1.10 Representación esquemática de una hoja de óxido de grafeno tras el proceso reductivo donde se aprecia la restauración casi total de la red gráfrica.....	19
Figura 1.11 Estructura secundaria de la queratina. Las conformaciones en hélice α y hoja β plegada son las más estables y están presentes en muchas proteínas.....	23
Figura 1.12 Niveles de organización estructural de una célula.....	26
Figura 1.13. Estructura de la amilosa. Homopolímero de glucosa con enlaces glucosídicos α (1,4).....	27
Figura 1.14 Estructura de la amilopectina. Se especifican las uniones α (1,4) del polímero y los puntos de ramificación con enlaces glucosídicos α (1,6).....	28
Figura 1.15 Estructura molecular de la celulosa.....	29
Figura 1.16 Estructura molecular de la carboximetil celulosa en la que un hidrógeno del hidroxilo de la celulosa es sustituido por un grupo carboximetilado.....	29
Figura 1.17 Estructura química de la quitina donde se aprecia que el grupo hidroxilo del carbono dos de la glucosa se encuentra sustituido por un grupo amino acetilado y que constituye la única diferencia estructural respecto a la celulosa.....	30
Figura 1.18 Estructura química del quitosano. Unidades D- glucosmina y N-acetil glucosamina aparecen aleatoriamente unidas por enlaces β (1,4).....	30
Figura 2.1 Resumen en imágenes del proceso de oxidación del grafito.....	33
Figura 2.2 Suspensiones de hojas de óxido de grafito y equipo de baño ultrasónico en el que las hojas de óxido de grafeno son exfoliadas..	34
Figura 2.3 Fotografía digital de la obtención de la sal de queratina.....	35

Figura 2.4	Proceso de diálisis de la sal de queratina.....	36
Figura 2.5	Fotografía digital de las reacciones de injerto de queratina sobre las hojas de óxido de grafeno.....	37
Figura 2.6	Fotografía digital de la película quitosano/almidón/grafeno oxidado reforzada a 0.1% en peso.....	41
Figura 2.7	Sección rectangular de la película carboximetilcelulosa/almidón/GO a 0.1% en peso.....	42
Figura 2.8	Diagrama de flujo que muestra las actividades implementadas en la metodología.....	42
Figura 2.9	Tipos de vibraciones del enlace molecular.....	44
Figura 2.10	Diagrama energético en el que se muestran las dispersiones Rayleigh, Raman anti-stokes y Raman Stokes.....	45
Figura 2.11	Diagrama esquemático de un microscopio electrónico de transmisión y la interacción haz-muestra en un espécimen delgado.....	47
Figura 2.12	Diagrama esquemático de las unidades que componen un microscopio electrónico de barrido y la interacción haz-muestra en un espécimen en grueso.....	48
Figura 2.13	Generación de rayos X característicos debido a la interacción de un haz electrónico con electrones de capas profundas de átomos de la muestra.....	50
Figura 2.14	Representación esquemática de las unidades que componen un microscopio de fuerzas atómicas.....	51
Figura 2.15	Representación esquemática de algunos de los elementos que componen el instrumento de análisis dinámico mecánico.....	52
Figura 3.1	Espectro de dispersión de energía del grafito y su análisis elemental mostrando la composición en porcentaje en peso y atómico.....	54
Figura 3.2	Espectro de dispersión de energía del grafito oxidado y su análisis elemental mostrando su composición en porcentaje en peso y atómico.....	55
Figura 3.3	Patrón de difracción de rayos X del grafito en el que se aprecia el pico característico de este material con un ángulo de difracción 2θ de 26.5 grados.....	57
Figura 3.4	Patrón de difracción de rayos X de grafito oxidado en el que se observa un pico con ángulo de difracción 2θ de 11.94 grados indicando que el material está altamente oxidado.....	58
Figura 3.5	Imágenes obtenidas por HRSEM de óxido de grafito.....	59
Figura 3.6	Espectro Infrarrojo de hojas de óxido de grafeno donde se ilustran los diversos grupos funcionales en segmentos representativos de la lámina de óxido de grafeno.....	60
Figura 3.7	Espectros Raman de grafito, grafito oxidado y grafeno oxidado.....	63
Figura 3.8	Vista topográfica obtenida mediante AFM de hojas de óxido de grafeno depositadas sobre un sustrato de mica y el perfil de altura.....	64

Figura 3.9 Imágenes TEM de hojas de óxido de grafeno.....	65
Figura 3.10 Micrografía SEM de hojas de óxido de grafeno.....	66
Figura 3.11 Representación esquemática del proceso de injerto de queratina en las hojas de óxido de grafeno.....	67
Figura 3.12 Materiales de carbono dispersados en agua y hexano.....	68
Figura 3.13 Espectro infrarrojo de grafeno oxidado, queratina y grafeno oxidado injertado con queratina.....	70
Figura 3.14 Espectros Raman de grafeno oxidado y hojas de óxido de grafeno covalentemente injertadas con queratina (GOIQ1 y GOIQ2).....	71
Figura 3.15 Espectros de energía dispersiva de hojas de óxido de grafeno covalentemente injertadas con queratina bajo las condiciones 1 y 2 de reacción.....	72
Figura 3.16 Imagen AFM de hojas de óxido de grafeno injertadas con queratina (GKG01) depositadas sobre un sustrato de mica y el perfil de altura.....	73
Figura 3.17 Imágenes TEM.....	74
Figura 3.18 Micrografías HRTEM.....	76
Figura 3.19 Curva de calibración para el ensayo de Bradford para cuantificar la cantidad de queratina injertada en las hojas de óxido de grafeno.....	77
Figura 3.20 Espectro FT-IR de la película quitosano/almidón.....	82
Figura 3.21 Espectro FT-IR de la película pura carboximetil celulosa/almidón.....	83
Figura 3.22 Espectros Raman de la película prístina Q/A y de las películas nanocompuestas.....	85
Figura 3.23 Espectros Raman de la película prístina CMC/A y películas reforzadas.....	88
Figura 3.24 Imágenes SEM de la superficie de fractura.....	90
Figura 3.25 Imágenes SEM de la superficie de fractura.....	91
Figura 3.26 Temperatura versus módulo de almacenamiento dinámico (E') de la película pura Q/A y de las películas nanocompuestas Q/A/GO, Q/A/GOIQ11 y Q/A/GOIQ21.....	93
Figura 3.27 Temperatura vs módulo de análisis dinámico (E'') de la película Q/A pura y de las películas compuestas Q/A/GO, Q/A/GOIQ15 y Q/A/GOIQ25.....	94
Figura 3.28 Temperatura vs el módulo de almacenamiento para la película pura CMC/A y las películas nanocompuestas CMC/A/GO1, CMC/A/GOIQ11 y CMC/A/GOIQ21 y temperatura vs el módulo de almacenamiento de la película prístina y las películas nanocompuestas al 0.5% de peso.....	95

CAPÍTULO 1

Fundamentos

1.1 El Carbono

El carbono es quizá el elemento más importante e intrigante de la tabla periódica. Es un elemento ubicuo desde el sistema solar, hasta la estructura y función de los seres vivos. Presenta propiedades únicas, entre ellas, la capacidad de catenación, la cual le permite formar largas cadenas de átomos y, aquella de enlazamiento múltiple, que lo faculta para la formación de dobles y triples enlaces consigo mismo y con otros elementos [1].

A partir de estas propiedades es posible construir una amplia variedad de compuestos, anillos y complicadas redes que, en conjunto con los puentes de hidrógeno, constituyen la base de la vida, al menos de la forma en la que la conocemos.

A demás de poseer una química mucho más extensa que el resto de los elementos de la tabla periódica, el carbono tiene la capacidad de combinar sus átomos en diversos arreglos cristalinos o alótropos. Aunque esta propiedad no es exclusiva de este elemento, el carbono si representa una singularidad en cuanto al número y variedad de sus formas alotrópicas [2].

Para entender la formación de los alótropos del carbono y su disparidad en comportamiento y propiedades, es necesario considerar la configuración atómica de dicho elemento y la manera en la cual éste se enlaza a otros átomos de carbono. Dichos tópicos serán revisados a continuación.

1.1.1 La estructura del átomo del carbono

El carbono es el primer elemento en la serie IVA de la tabla periódica. Posee 6 electrones que se distribuyen en orbitales atómicos de acuerdo a la siguiente configuración: $(1s)^2 (2s)^2 (2p_x)^1 (2p_y)^1 (2p_z)$. Los electrones localizados en la capa más externa del átomo son los que se encuentran disponibles para intervenir en la formación de enlaces. Estos electrones son llamados electrones de valencia. En este caso, los electrones de valencia son los dos electrones desapareados del orbital 2p y dan lugar al carbono divalente aunque en la forma de un intermediario altamente inestable. Sin embargo, la mayoría de los compuestos formados por el carbono y sus alótropos son tetravalentes lo cual se explica por la promoción de un electrón del orbital 2s al orbital vacío $2p_z$ generando cuatro electrones desapareados disponibles para enlazarse. La promoción de un electrón del orbital 2s al orbital 2p aclara la tetravalencia del carbono y permite observar que los orbitales pueden interactuar para formar

orbitales nuevos dando origen al concepto de hibridación. La hibridación es, entonces, la mezcla de los orbitales atómicos en un átomo para generar un conjunto de orbitales híbridos [3]. Dependiendo de la cantidad de orbitales involucrados en el proceso de mezcla son posibles tres tipos de hibridación en el carbono las cuales trataremos a continuación.

1.1.1.1 Hibridación sp^3 del carbono

La hibridación denominada sp^3 o tetragonal surge de la mezcla de un orbital s con tres orbitales p que originan cuatro orbitales híbridos equivalentes. Estos orbitales híbridos se orientan tan alejados como es posible ubicándose en los vértices de un tetraedro regular con ángulos de enlace de 109.5° . Los cuatro enlaces formados son enlaces covalentes sigma (σ) que tienen por función conferir estabilidad estructural a la molécula.

Es importante observar que a pesar de que se requiere una energía elevada para llevar a cabo la hibridación, ésta se compensa con la energía liberada por la formación de enlaces extraordinariamente fuertes [3,4].

1.1.1.2 Hibridación sp^2 del carbono

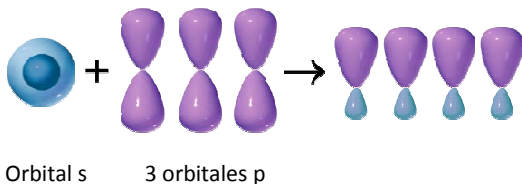
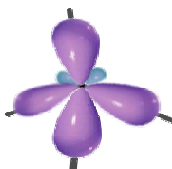
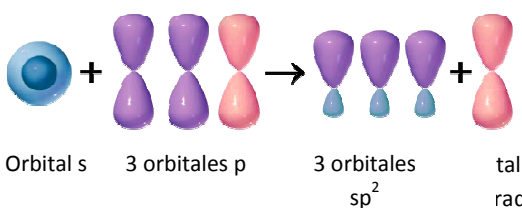
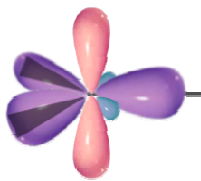
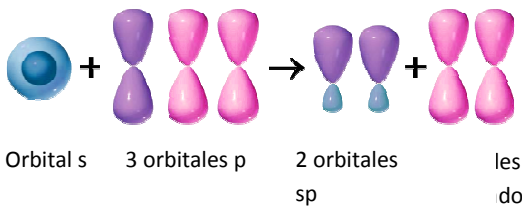

En la hibridación sp^2 del carbono se generan tres orbitales híbridos equivalentes provenientes de la mezcla de un orbital s con dos orbitales p. Estos tres orbitales híbridos σ se orientan en una geometría trigonal plana y el ángulo de enlace entre ellos es de 120° .

En este caso el orbital $2p_z$ permanece sin hibridar; se sitúa de forma perpendicular al plano integrado por los orbitales hibridados σ y su electrón se encuentra disponible para la formación de un enlace pi (π) con otros átomos.

1.1.1.3 Hibridación sp del carbono

En la hibridación sp o lineal dos orbitales híbridos son generados por la combinación de un orbital s con un orbital p. Ambos orbitales híbridos forman un ángulo de 180° y en consecuencia la geometría molecular es lineal. En este proceso los orbitales $2p_y$ y $2p_z$ no participan en la hibridación y sus electrones se encuentran débilmente ligados y disponibles para la formación de enlaces π . La Tabla 1.1 muestra los orbitales híbridos mencionados y su geometría.

Tabla 1.1 Hibridación de orbitales en el átomo de carbono

Configuración electrónica	Proceso de hibridación	Geometría										
Estado fundamental												
C <table><tr><td>$\uparrow\downarrow$</td><td>$\uparrow\downarrow$</td><td>\uparrow</td><td>\uparrow</td><td></td></tr><tr><td>$1s$</td><td>$2s$</td><td>$2p_x$</td><td>$2p_y$</td><td>$2p_z$</td></tr></table>	$\uparrow\downarrow$	$\uparrow\downarrow$	\uparrow	\uparrow		$1s$	$2s$	$2p_x$	$2p_y$	$2p_z$		
$\uparrow\downarrow$	$\uparrow\downarrow$	\uparrow	\uparrow									
$1s$	$2s$	$2p_x$	$2p_y$	$2p_z$								
Estado excitado												
C^* <table><tr><td>$\uparrow\downarrow$</td><td>\uparrow</td><td>\uparrow</td><td>\uparrow</td><td>\uparrow</td></tr><tr><td>$1s$</td><td>$2s$</td><td>$2p_x$</td><td>$2p_y$</td><td>$2p_z$</td></tr></table>	$\uparrow\downarrow$	\uparrow	\uparrow	\uparrow	\uparrow	$1s$	$2s$	$2p_x$	$2p_y$	$2p_z$		
$\uparrow\downarrow$	\uparrow	\uparrow	\uparrow	\uparrow								
$1s$	$2s$	$2p_x$	$2p_y$	$2p_z$								
Hibridación sp^3												
C^* <table><tr><td>$\uparrow\downarrow$</td><td>\uparrow</td><td>\uparrow</td><td>\uparrow</td><td>\uparrow</td></tr><tr><td>$1s$</td><td>sp^3</td><td>sp^3</td><td>sp^3</td><td>sp^3</td></tr></table>	$\uparrow\downarrow$	\uparrow	\uparrow	\uparrow	\uparrow	$1s$	sp^3	sp^3	sp^3	sp^3	 <p>Orbital s 3 orbitales p</p>	 <p>geometría tetraédrica</p>
$\uparrow\downarrow$	\uparrow	\uparrow	\uparrow	\uparrow								
$1s$	sp^3	sp^3	sp^3	sp^3								
Hibridación sp^2												
C^* <table><tr><td>$\uparrow\downarrow$</td><td>\uparrow</td><td>\uparrow</td><td>\uparrow</td><td>\uparrow</td></tr><tr><td>$1s$</td><td>sp^2</td><td>sp^2</td><td>sp^2</td><td>p</td></tr></table>	$\uparrow\downarrow$	\uparrow	\uparrow	\uparrow	\uparrow	$1s$	sp^2	sp^2	sp^2	p	 <p>Orbital s 3 orbitales p 3 orbitales sp^2 tal p rado</p>	 <p>geometría trigonal plana</p>
$\uparrow\downarrow$	\uparrow	\uparrow	\uparrow	\uparrow								
$1s$	sp^2	sp^2	sp^2	p								
Hibridación sp												
C^* <table><tr><td>$\uparrow\downarrow$</td><td>\uparrow</td><td>\uparrow</td><td>\uparrow</td><td>\uparrow</td></tr><tr><td>$1s$</td><td>sp</td><td>sp</td><td>p</td><td>p</td></tr></table>	$\uparrow\downarrow$	\uparrow	\uparrow	\uparrow	\uparrow	$1s$	sp	sp	p	p	 <p>Orbital s 3 orbitales p 2 orbitales sp les p dos</p>	 <p>geometría lineal</p>
$\uparrow\downarrow$	\uparrow	\uparrow	\uparrow	\uparrow								
$1s$	sp	sp	p	p								

Como puede ser observado, la forma en que se disponen los átomos de carbono en el espacio está íntimamente ligada con el tipo de hibridación que se haya producido en sus orbitales y, por ello, este átomo posee una amplia variedad de formas alotrópicas con características y propiedades muy variadas.

1.1.2 Formas alotrópicas del carbono

Los sólidos alotrópicos del carbono pueden ser clasificados en tres grandes categorías [2]:

- Estructuras con hibridación sp^3 que incluyen al diamante y la lonsdaleita (una forma detectada en meteoritos).
- Estructuras con hibridación sp^2 que incluyen grafito y grafeno, entre otros.
- Estructuras con hibridación sp o mezclas de hibridación como los carbinos y los fullerenos, respectivamente.

Para mayor claridad, en la Tabla 1.2 se muestra un esquema de clasificación de alótropos de carbono y formas derivadas propuesto por Heimann et al [5].

Tabla 1.2 Clasificación de los alótropos de carbono

sp^3	sp^2	sp
Diamante <ul style="list-style-type: none"> • Cúbico • Hexagonal (lonsdaleita) 	Grafito <ul style="list-style-type: none"> • Hexagonal • Rombohedral Grafeno	Carbinos <ul style="list-style-type: none"> • α-carbino • β-carbino Caoita
sp^3+sp^2+sp	sp^n (con $3 > n > 1$)	
Carbono amorfo Carbono vítreo Negro de carbono	Fullerenos Nanotubos de carbono Cebollas de carbono	

1.1.2.1 Una breve mirada a los alótropos del carbono

Cómo fue advertido, el carbono puede existir en varios arreglos diferentes. Durante mucho tiempo se consideró que el carbono formaba, a temperatura y presión ambientes, solamente dos estructuras primarias: el diamante y el grafito, las cuales, sin duda, poseen sus encantos lo que permitió estudiarlos y aplicarlos ampliamente desde hace siglos.

El diamante está formado por átomos de carbono con una hibridación sp^3 donde cada átomo está unido a otros cuatro en una disposición tetraédrica que conforma una red tridimensional. Esta red tridimensional de enlaces covalentes es la que le proporciona al

diamante las propiedades de alta dureza, excelente conductividad térmica, comportamiento eléctrico aislante, transparencia óptica y elevados puntos de fusión.

La estructura del grafito es enteramente diferente a la del diamante. Presenta una hibridación sp^2 lo que ocasiona que sus orbitales se encuentren distribuidos en una geometría trigonal plana, con ángulos de 120° entre sí. Cada átomo se encuentra unido covalentemente a otros tres átomos de carbono en una malla de distribución hexagonal. Dichas mallas se encuentran unidas por enlaces débiles de tipo Van der Waals y, en consecuencia, el grafito presenta una elevada anisotropía, por lo que algunas de sus propiedades varían considerablemente dependiendo de la dirección en la que se midan. En el plano, el grafito es un buen conductor eléctrico y térmico no así en la dirección normal a la superficie por la separación de capas relativamente elevada. Mecánicamente sus planos pueden deslizarse fácilmente unos sobre otros, pero en la dirección perpendicular presenta elevada dureza. Químicamente es un material inerte.

En las últimas tres décadas se ha ido descubriendo toda una nueva serie de alótropos del carbono que, aunque predichas teóricamente, no había hasta entonces prueba alguna de su existencia (Figura 1.1). El primer elemento de esta serie lo constituye el fullereno. Los fullerenos fueron descubiertos en 1985 al estudiar la naturaleza del carbono en el espacio interestelar por Smalley y Kroto [6]; consta de una familia de estructuras donde los átomos de carbono se organizan en conformaciones geodésicas consistentes de una red de anillos de cinco y seis miembros que permite que dicha estructura se cierre en forma de esfera. Su hibridación es parcialmente de tipo sp^3 y sp^2 dependiendo del número de átomos que lo constituyan, aunque, esencialmente, es considerada sp^2 . Presentan alta lubricidad y reactividad química.

En 1991 S. Iijima descubrió los nanotubos cuando estudiaba el depósito obtenido por una descarga eléctrica de grafito. Los nanotubos de carbono pueden considerarse como el resultado del enrollamiento de un plano atómico de grafito [7]. Este plano puede ser simple o múltiple lo que da lugar a nanotubos de pared sencilla o multipared. Los nanotubos se comportan como conductores eléctricos, semiconductores o aislantes dependiendo de la manera en que se enrollan respecto a la dirección de un eje específico en el plano grafitico. Dicha propiedad se conoce como quiralidad [6]. Su hibridación sp^2 les provee elevada resistencia -10 veces mayor que la del acero-, baja densidad, gran flexibilidad, dureza y excelente conductividad térmica.

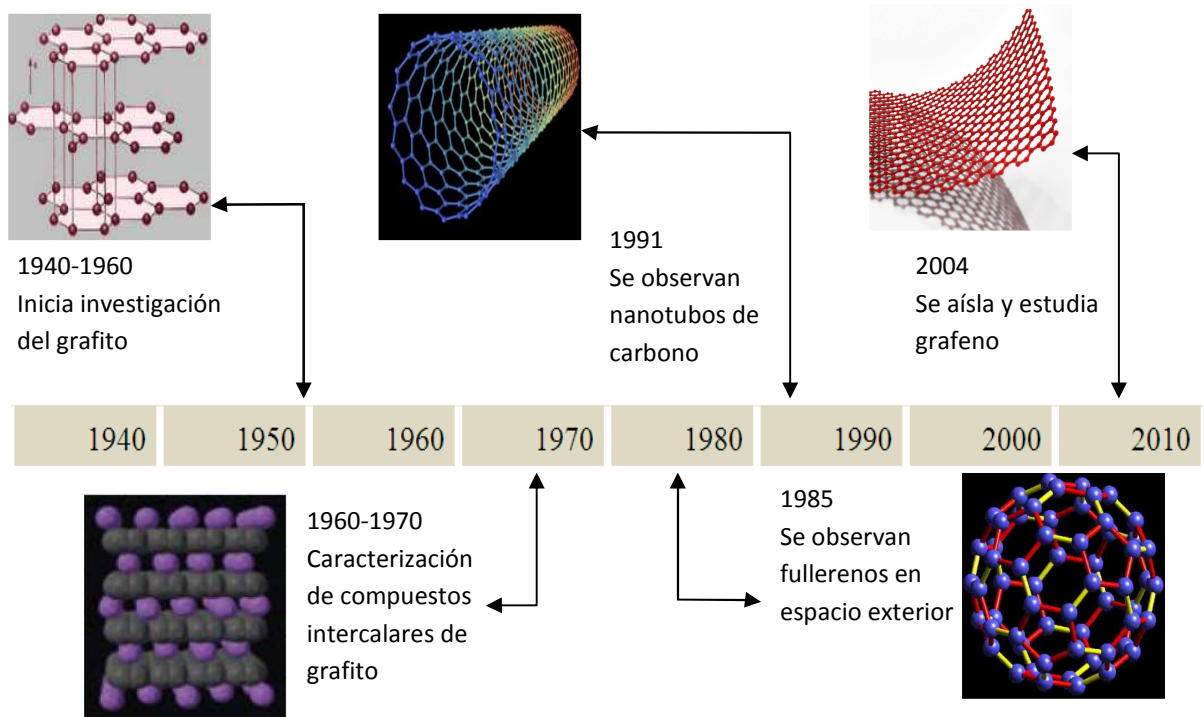


Figura 1.1 Línea de tiempo de la investigación en alótropos de carbono [8].

Finalmente y, como el descubrimiento más inesperado de todos por la predicha inexistencia teórica de cristales bidimensionales, en 2004 un grupo de científicos encabezados por Andre Geim y Kostya Novoselov lograron aislar e identificar láminas individuales del alótropo de carbono teóricamente mejor estudiado: el grafeno. Partiendo de un cristal de grafito, emplearon una técnica denominada exfoliación micromecánica (micromechanical cleavage) que se fundamenta en la debilidad de los enlaces de tipo van der Waals con los que interaccionan las láminas de grafeno que conforman el grafito y que consiste en la exfoliación repetida de la pieza de cristal gráfítico empleando una cinta adhesiva.

Este material acaparó la atención científica a su respecto, no solo por ser la planicie más delgada en nuestro universo, lo cual lo hace, en sí mismo, interesante, si no por las extraordinarias nuevas propiedades que presenta, las cuales se abordarán en los siguientes apartados.

1.2 El grafeno

El grafeno es una estructura nanométrica, bidimensional, de átomos de carbono fuertemente cohesionados en una superficie uniforme, ligeramente plana, con ondulaciones, de un átomo de espesor, con una apariencia semejante a una capa de panal de abejas por su configuración

atómica hexagonal (ver Figura 1.2) [9]. Ésta laminilla, compuesta de anillos de benceno desprovistos de sus átomos de hidrógeno, es considerada la base para el entendimiento de las propiedades en otros alótopos de carbono [10]. Con excepción del dimanante, el grafeno puede visualizarse como el bloque constructor a partir del cual se forman todos los demás alótopos; este plano bidimensional puede ser envuelto a manera de forro de un balón proporcionando fullerenos; enrollado cilíndricamente para formar nanotubos; o superpuesto tridimensionalmente para producir grafito.

El término grafeno es hoy frecuentemente utilizado para referirse a un material formado por pocas láminas, que comprende desde una hasta 10 capas superpuestas y en el cual sus propiedades están en función de su dimensionalidad. Tomando como base discriminadora la especificidad de sus propiedades, el grafeno puede ser clasificado en tres tipos: monocapa, bicapa y aquél que se haya en un rango de 3 a 10 capas. Las estructuras consistentes de más de 10 capas son consideradas hojas de grafeno espesas y son de poco interés científico [9,11].

La estabilidad en su estructura laminar, el arreglo hexagonal casi libre de defectos o impurezas y las interacciones de los electrones desplazándose a través de esta planicie bidimensional se han visto reflejadas en un conjunto de propiedades, sobre todo electrónicas, que hacen del grafeno un material único.

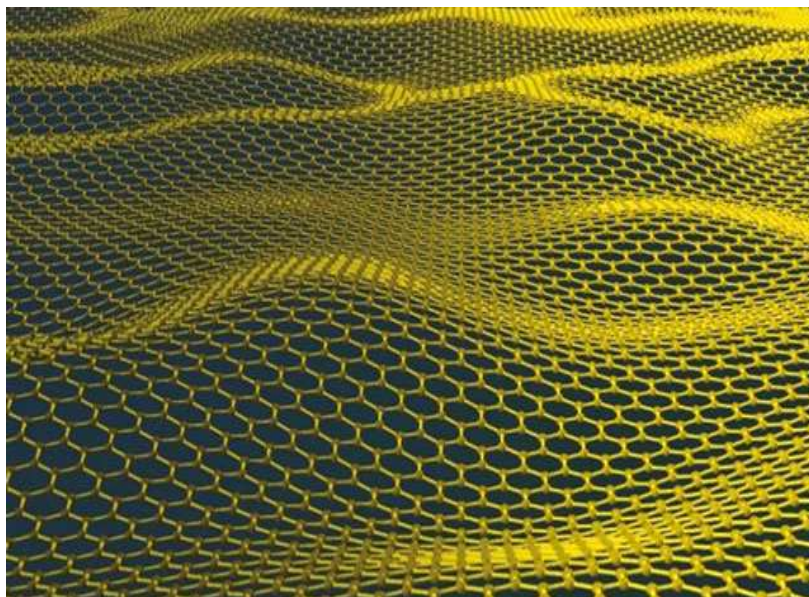


Figura 1.2 Representación de la estructura bidimensional de grafeno [12].

1.2.1 Propiedades del grafeno

Las cualidades electrónicas superlativas de este material son las que han dirigido los esfuerzos de la investigación científica para lograr comprenderles de una manera más profunda. Sin embargo, sería injusto definir al grafeno únicamente por sus características electrónicas, cuando diversas otras propiedades, entre ellas las mecánicas, térmicas y químicas, presentan toda una fenomenología por desarrollar y las cuales han comenzado sólo recientemente a ser investigadas [13]. En esta sección introduciremos las propiedades básicas del grafeno y algunas de las aplicaciones que de ellas emanan.

1.2.1.1 Propiedades electrónicas del grafeno

El grafeno puede delinearse como una superficie plana compuesta de un arreglo hexagonal de átomos de carbono con una hibridación de tipo sp^2 ; este tipo de hibridación dirige a una estructura trigonal plana en el que cada átomo de carbono forma un enlace covalente σ con otros tres átomos vecinos separados 1.42 \AA . El orbital $2p_z$ remanente puede visualizarse como un par de lóbulos orientados perpendicularmente al plano lo que origina un solapamiento lateral entre éstos dando lugar a un estado electrónico no localizado denominado sistema π (Figura 1.3a). El electrón que se encuentra en estos orbitales está débilmente ligado, lo que le permite saltar de orbital a orbital tomando la forma de una distribución electrónica continua por arriba y por debajo del plano del grafeno (Figura 1.3b). La gran movilidad de los electrones π deslocalizados en las direcciones paralelas al plano es lo que determina las propiedades electrónicas de este material [14-15].

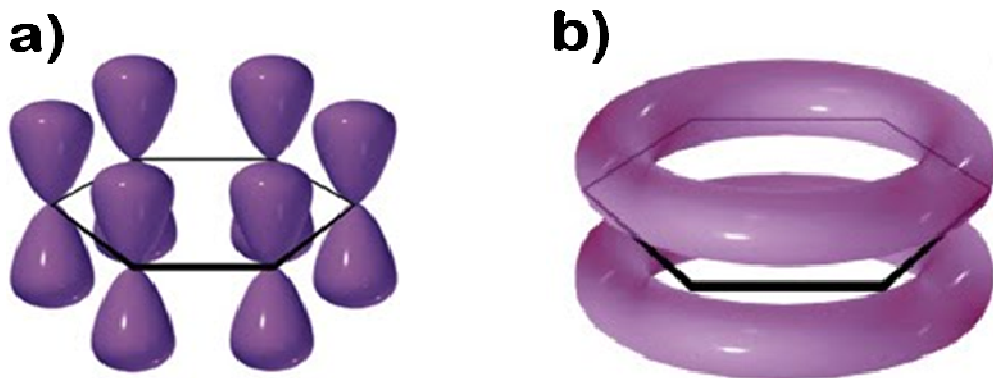


Figura 1.3 Electrones no localizados en el grafeno. a) Se ilustra un segmento hexagonal donde cada átomo de carbono tiene un orbital $2p_z$ remanente y perpendicular al plano de los enlaces σ carbono-carbono. b) Los orbitales de enlace π toman la forma de una distribución electrónica continua por arriba y por debajo del plano del anillo [16].

1.2.1.1.1 Estructura de bandas poco convencional

Las propiedades eléctricas de un material sólido dependen en detalle de su estructura de bandas, es decir, del arreglo de las bandas electrónicas más externas y de la forma en la cual éstas son ocupadas con electrones [17]. Con base en lo anterior, existen tres clases principales de estructuras de bandas en los sólidos: la estructura correspondiente a los materiales metálicos, a los aislantes y a los semiconductores. En la Figura 1.4 se presentan las estructuras de bandas de los materiales sólidos arriba puntualizados. La forma lila representa la banda de conducción y la forma morada la banda de valencia. En los materiales metálicos la banda de conducción y la banda de valencia se solapan. En los aislantes aparece una banda prohibida que dificulta el libre desplazamiento de los electrones de una banda a otra. La estructura de bandas en los semiconductores es la misma que en los aislantes con la excepción de que la brecha energética es relativamente angosta [18].

El grafeno, por su parte, presenta un comportamiento bastante poco convencional. Definido como un semiconductor con banda prohibida cero, comparte con los metales que el gap electrónico es nulo; esto se debe a la inusual forma de cono de sus bandas, donde en las proximidades del nivel de Fermi la banda de conducción se une en un solo punto con la cima de la banda de valencia. En cuanto a los materiales semiconductores, comparte con ellos ambos tipos de transportadores de carga: electrones y huecos. Este material híbrido entre metal y semiconductor debe muchas de sus propiedades a esta estructura electrónica de bandas [19].

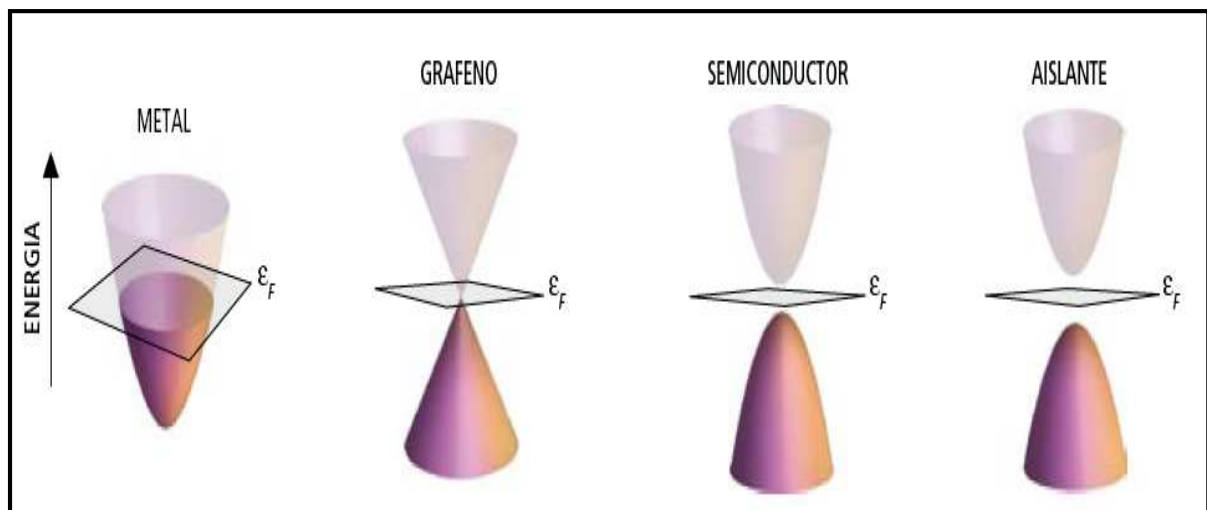


Figura 1.4 Estructura de bandas electrónicas para metales, semiconductores, aislantes y grafeno. El grafeno presenta una forma de banda bastante poco convencional que le confiere propiedades electrónicas que le permiten situarse entre los metales y los semiconductores [18].

1.2.1.1.2 Movilidad electrónica inusual: Transporte balístico

En un material convencional -metales- el desplazamiento de los electrones se ve dificultado por la colisión de éstos con diversos “obstáculos”. Estos obstáculos provienen de defectos en la estructura de la red cristalina generados por impurezas, átomos intersticiales, vacancias, dislocaciones, etcétera [17]. Las imperfecciones de la red cristalina desempeñan un papel como centros de dispersión para el electrón, el cual, con cada evento difusivo, pierde energía cinética y cambia la dirección de su movimiento (Figura 1.5a). Estos centros dispersivos que se oponen al desplazamiento del electrón son los que ocasionan que la resistencia aumente. En este aspecto el grafeno presenta, de nueva cuenta, un comportamiento poco ordinario. En el grafeno la resistencia eléctrica es independiente del número de impurezas [20]. Los electrones en el grafeno pueden recorrer distancias del orden de varias micras sin dispersión alguna, incluso en muestras colocadas sobre sustratos rugosos atómicamente o cubiertas con adsorbatos y, más sorprendentemente, si cabe, a temperatura ambiente (Figura 1.5b) [13]. Este comportamiento es descrito como transporte balístico de electrones. Recientemente ha sido reportado que para el grafeno la movilidad electrónica oscila alrededor de $\sim 200\,000\text{ cm}^2/\text{Vs}$ mientras que la exhibida por algunos semiconductores, concretamente la aleación InSb, es de $\sim 77\,000\text{ cm}^2/\text{Vs}$ [13,21].

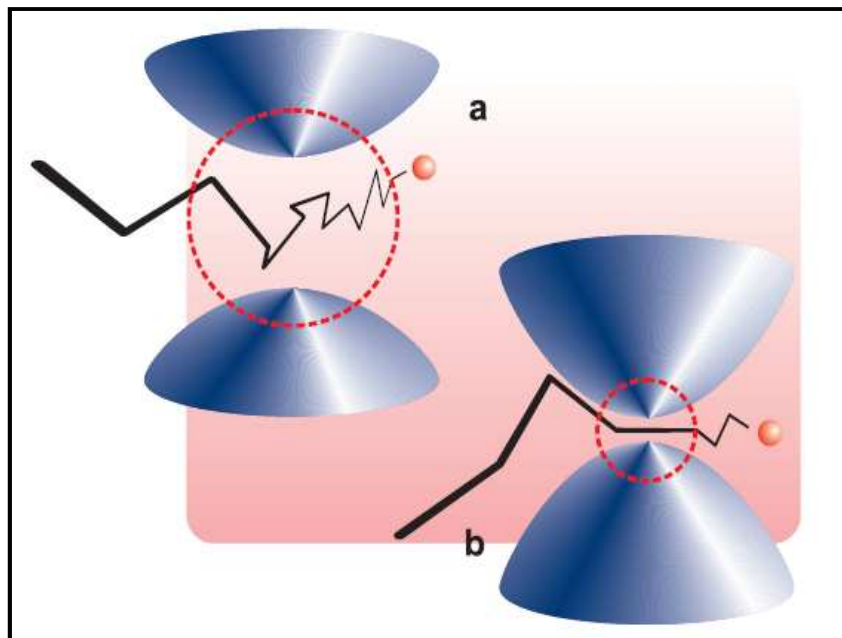


Figura 1.5 Movilidad electrónica. a) Transporte electrónico bajo el régimen óhmico. b) Transporte electrónico balístico [22]

1.2.1.1.3 Los portadores de carga pierden su masa

Otro de los aspectos más interesantes que surge de la interacción entre los portadores de carga y la estructura en forma de panal de abejas en el grafeno es la identificación de una relación entre la energía y el momento bastante particular.

Mientras que para un material ordinario la relación de dispersión energía/momento es descrita por la aproximación clásica (cuadrática):

$$E=p^2/(2m)$$

en el grafeno el comportamiento es sorprendentemente diferente; la relación entre la energía y el momento alrededor del nivel de Fermi es aproximadamente lineal, es decir:

$$E = v_F p$$

donde “ v_F ” es denominada “la velocidad Fermi-Dirac” y adquiere un valor constante de 1×10^6 m/s. Esta relación lineal entre la energía y el momento fue predicha teóricamente en 1947 por Wallace y solo recientemente se ha visto confirmada experimentalmente. Gracias a esta relación de dispersión momento/energía los portadores de carga en el grafeno se comporten como partículas relativistas sin masa, denominadas, de forma más apropiada, fermiones Dirac. Estas partículas se mueven a una velocidad que es solo 300 veces más pequeña que la velocidad de la luz, lo que permite la observación de diversos fenómenos relativistas; y, en contraste con los neutrinos, los fermiones en el grafeno tiene una unidad de carga eléctrica lo que permite su manipulación usando campos electromagnéticos [19,20].

1.2.1.2 Propiedades mecánicas del grafeno

El comportamiento mecánico de un material expresa la relación entre su respuesta o deformación y el efecto de una carga aplicada o fuerza. Existen básicamente tres esfuerzos o cargas a los cuales un material puede ser sometido: tensión, compresión y corte. Todos ellos caracterizan de manera importante al material, sin embargo, es el ensayo de tensión el que más información proporciona [23]. Entre los parámetros que suelen obtenerse a partir de un ensayo de tracción se encuentran: módulo de elasticidad, límite elástico, resistencia a la tracción, porcentaje de elongación, entre otros. La investigación en el contexto de los nanotubos de carbono revela que éstos poseen una elevada fuerza intrínseca lo que los

posiciona como el material más fuerte de la naturaleza [24]. Al ser el grafeno la base sobre la cual se sustenta la estructura de éste y otros alótropos de carbono fue predicho que poseyera elevados parámetros mecánicos e investigaciones recientes lo han confirmado. Lee y demás colaboradores [25] midieron las propiedades elásticas de una monocapa de grafeno libremente suspendida mediante nanoindentación en un microscopio de fuerzas atómicas. Los resultados obtenidos fueron extraordinarios. El grafeno exhibe un módulo elástico o módulo de Young de $\sim 1\text{TPa}$ lo que lo revela como un material altamente rígido, es decir, admite tensiones muy elevadas antes de romperse y, sin embargo, simultáneamente presenta elevada flexibilidad que se evidencia en la formación de pliegues y dobleces en sus hojas [13]. Esta peculiaridad es esquemáticamente representada en la Figura 1.6 donde una hipotética sábana de grafeno exhibe simultáneamente rigidez y flexibilidad [26]. El grafeno posee, además, una fuerza de ruptura de 42 N/m lo que representa la fuerza intrínseca de una hoja de grafeno libre de defectos [25]. Así mismo sustenta deformaciones elásticas reversibles de hasta un 20% valor por demás superior a cualquier otro cristal [24].

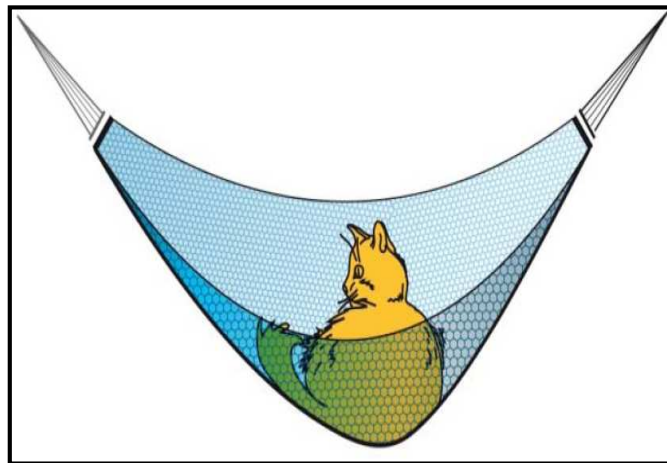


Figura 1.6 Representación esquemática de una sábana de grafeno admitiendo tensiones elevadas y mostrando flexibilidad de manera simultánea [26].

1.2.1.3 Propiedades térmicas del grafeno

La respuesta de un material a la aplicación de calor es definida como propiedad térmica. La conductividad térmica es la propiedad que caracteriza la habilidad de un material para transferir calor y, en este sentido, la conductividad térmica del grafeno es mayor que la de cualquier material conocido. En 2008, Balandin, et al [27] midieron la conductividad térmica de una hoja simple de grafeno suspendida sobre un surco ancho en un sustrato de Si/SiO_2 usando una técnica óptica de no contacto. El valor de conductividad obtenido fue de 5000

W/m K a temperatura ambiente el cual corresponde al límite superior de los valores más altos reportados para envoltorios de nanotubos de carbono de pared sencilla.

1.2.1.4 Propiedades químicas del grafeno

Finalmente, desde la óptica química, el grafeno puede ser considerado todo él como una superficie extendida, expuesta por ambos lados, que presenta una elevada área superficial específica teórica de $\sim 2600 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$ [28]. Considerado incluso como un sistema conjugado extendido, el grafeno es de 100 a 1000 veces más grande que las moléculas orgánicas típicas, por tanto, la funcionalización de estas redes gráficas constituye toda una inauguración en la síntesis de nuevas moléculas híbridas. La extensión de las laminillas permite que diversas moléculas y átomos puedan ser unidos en ambos lados de las hojas lo que crea estructuras únicas doblemente decoradas [29].

1.2.2 Aplicaciones del grafeno

Desde el punto de vista fundamental el grafeno presenta una diversidad de propiedades excepcionales que le permiten abrir nuevas expectativas en el campo de la ciencia aplicada. Debido a que las muestras de grafeno presentan una elevada movilidad electrónica a temperatura ambiente y una muy baja densidad de defectos en su estructura cristalina el grafeno ha sido integrado en dispositivos sensores de gases (CO_2 y NO_2 por citar algunos ejemplos) en el que la conductancia del grafeno incrementa linealmente con el aumento en la concentración de la muestra gaseosa [30]. En esta misma línea de ideas, los cambios en el número, incluso pequeño, de los portadores de carga, provocados por la exposición del dispositivo a un espécimen gaseoso, estimulan un cambio notable en la conductividad del grafeno y por tanto una señal en el sensor [31]. Las ventajas que estos sensores presentan son elevada sensibilidad, tiempo de respuesta rápido y bajo consumo de energía.

Otra aplicación del grafeno en este momento consiste en utilizarlo como biosensor aprovechando su elevada área superficial y la excelente conductividad eléctrica que presenta. Estas características permiten que actúe como un alambre electrónico que facilita la unión entre el centro activo de una enzima o proteína y la superficie de un electrodo, mejorando la rapidez de transferencia electrónica y, por tanto, aumentando la detección selectiva de biomoléculas [32].

La fiabilidad y la rapidez de los dispositivos optoelectrónicos dependen de la temperatura, por tanto, es necesario contar con materiales con conductividades térmicas muy elevadas para disipar eficientemente el calor generado en esos dispositivos. En ese sentido, el grafeno dispone de una conductividad térmica muy elevada lo que lo hace un conductor de mejor calidad comparado con el silicio y esta característica permite perfilar aplicaciones en transistores o circuitos que trabajen de manera más rápida y en componentes más pequeños [33-34].

La estabilidad mecánica, la flexibilidad y la elevada conductividad eléctrica combinada con la alta transparencia, han permitido estudiar al grafeno como electrodo en celdas solares superando las desventajas de alto costo y fragilidad que el óxido de indio-estaño (ITO) presenta [35].

Desde la perspectiva de la ciencia de los materiales, aplicación que a nosotros particularmente interesa, el grafeno ha tenido, quizá, el mayor de sus desarrollos. La robustez mecánica y la funcionalización de esta red aromática de carbono han advertido en la síntesis de nanocompositos poliméricos una importante coyuntura. Los nanocompositos poliméricos amalgaman lo mejor de los dos mundos; en ellos se explotan las cualidades del polímero y se aprovechan las virtudes de la nanodimensionalidad del refuerzo. Los nanocompositos suelen presentar una buena combinación de rigidez mecánica, conductividades eléctrica y térmica y ligereza a concentraciones mínimas de refuerzo lo que permite aplicaciones en el área de empaques, materiales biodegradables o en el área de la electrónica [29,36].

1.2.3 Métodos de obtención del grafeno

Para explorar las exquisitas propiedades fundamentales reportadas para el grafeno y realizar potenciales aplicaciones de éste, la habilidad para sintetizarlo y procesarlo juega un rol fundamental. Como se indicó con anterioridad, el grafeno en estado libre fue obtenido por vez primera en 2004 mediante exfoliación micromecánica. La técnica de exfoliación micromecánica consiste en someter la superficie limpia, nueva, tersa, de un cristal de grafito, a un raspado fino, de arriba abajo, mediante el empleo de cualquier objeto de superficie sólida, o bien, al descascaramiento repetido utilizando una cinta adhesiva hasta que las hojuelas más delgadas son extraídas. La mayoría de las hojuelas extraídas son tridimensionales, es decir, son grafito; sin embargo, entre ellas se hayan también bidimensionales, o sea, grafeno. Para identificar tentativamente a éstas últimas, se utiliza

microscopia óptica, aprovechando la característica de los cristallitos bidimensionales de volverse visibles en la parte superior de una hoja delgada -oblea- de óxido de silicio, y producir un débil contraste de interferencia de color con respecto a una oblea vacía [9]. Aunque este procedimiento provee grandes cristallitos de grafeno (hasta de 100 μm) de alta calidad con el que se cubren las necesidades para estudios fundamentales y aplicaciones electrónicas, el rendimiento es extremadamente bajo y, al ser un proceso manual, la obtención e identificación de material es considerablemente laboriosa. Por esta razón, en la actualidad se están desarrollando y perfeccionando otros métodos que permitan obtener rendimientos redituables de grafeno. Estos métodos, a grandes rasgos, pueden clasificarse en dos grandes aproximaciones: de arriba hacia el fondo (top-down) y del fondo hacia arriba (bottom-up).

- Aproximación top-down. Este método de fabricación de nanoestructuras parte de un material en bulto e involucra la remoción o reformación de átomos para crear la estructura deseada a escala nanométrica [37]. Aunque es inherentemente más sencilla que la aproximación bottom-up, la principal desventaja de esta técnica es la imperfección en la superficie de la estructura. Estas imperfecciones generadas durante el proceso podrían tener un impacto significativo en las propiedades físicas y en la química de superficie debido a que la proporción superficie/volumen en las nanoestructuras es muy grande.
- Aproximación bottom-up. En este proceso, átomos, moléculas e incluso nanopartículas en sí mismas pueden ser usadas como bloques constructores para la creación de nanoestructuras complejas. Alterando el tamaño de los bloques y controlando su organización y ensamble, dicha aproximación ofrece una mayor oportunidad de obtener estructuras con menos defectos, con composición química más homogénea y con mayor orden. El proceso es, en esencia, altamente controlado e involucra síntesis química compleja [38].

Aplicando este criterio, la aproximación bottom-up para la producción del grafeno permite sintetizarlo por una amplia variedad de métodos entre los que se encuentran la deposición química de vapor (CVD), arco descarga, crecimiento epitaxial sobre carburo de silicio SiC, reducción de CO, apertura de nanotubos de carbono y autoensamble de surfactantes. La naturaleza de las hojas obtenidas por esta aproximación es, en lo general, de alta calidad;

existe además un control fino del tamaño y grosor de las hojas, sin embargo, los rendimientos son bajos y los costos de producción elevados [39].

En el proceso top-down hojas de grafeno u hojas de grafeno modificado son producidas por separación o exfoliación de grafito o derivados de grafito. Dado que el grafito es relativamente económico y se encuentra disponible en grandes cantidades, este proceso ha recibido la mayor atención con respecto a la producción en gran escala del grafeno [40]. La producción de grafeno por exfoliación directa de grafito comprende la exfoliación micromecánica, la exfoliación mediante ultrasonido en presencia de polivinilpirrolidona, funcionalización electroquímica asistida con líquidos iónicos y la disolución en superácidos. Empero, la naturaleza peligrosa de los químicos empleados, el costo de su remoción y el desafío que conlleva la separación de las hojas exfoliadas ha impulsado a que la investigación se enfoque ahora en la producción de grafeno a partir de derivados de grafito, especialmente, óxido de grafito. La Figura 1.7 es presentada para dar un mejor panorama acerca de las principales técnicas que son usadas para producir grafeno.

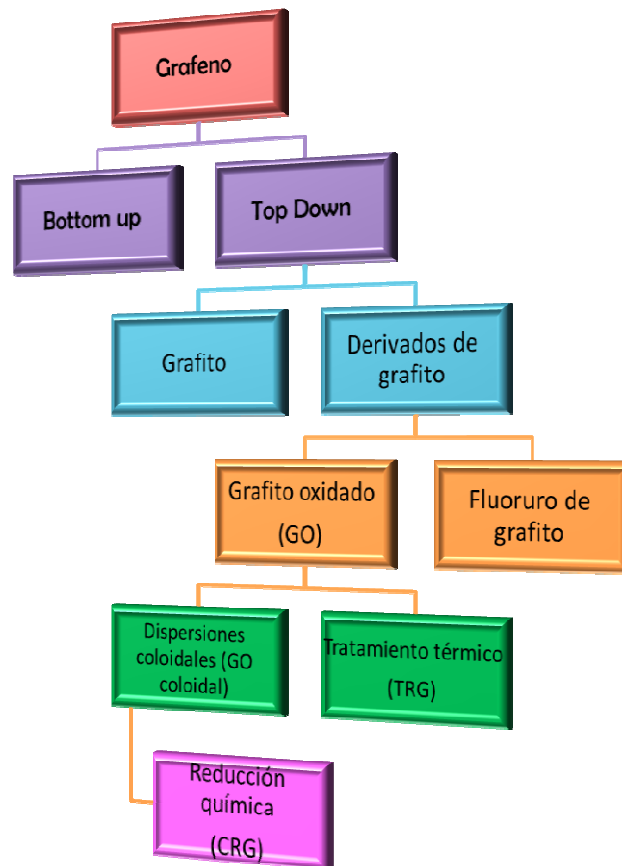


Figura 1.7 Esquema general de los métodos de producción de grafeno.

1.2.3.1 Grafeno obtenido a partir de grafito oxidado

La producción de grafeno a partir de la exfoliación y reducción del óxido de grafito es, al momento, el método que resulta más halagüeño para su producción en gran escala. Dispersiones coloidales estables de cantidades considerables de material y su bajo costo son algunas de las razones que le sustentan en esta posición.

El óxido de grafito fue preparado por vez primera en 1859 por Brodie. En la formación de este derivado el grafito es sometido a reacción con agentes oxidantes fuertes como clorato de potasio (KClO_3) en medio ácido ($\text{H}_2\text{SO}_4/\text{HNO}_3$). Modificaciones futuras a este método fueron hechas por W. S. Hummers y R. E. Offeman [41] en 1957 quienes lo sintetizaron en tiempos más cortos y de manera más segura. Tras el proceso oxidativo se obtiene un material que posee una estructura laminar semejante al grafito, sin embargo, los planos basales que constituyen dicha estructura son hojas de óxido de grafeno que se encuentran ampliamente adornadas con funcionalidades ricas en oxígeno [42,43]. La presencia de estos grupos funcionales vuelve a las hojas altamente hidrofílicas y provoca que las interacciones van der Waals entre láminas se debiliten permitiendo la introducción de moléculas de agua en las galerías intercapa. El aumento en la distancia entre láminas y su hidrofiliidad permite que el óxido de grafito sea fácilmente exfoliado en agua y en diversos solventes orgánicos polares mediante la aplicación de energía externa tal como la vibración ultrasónica [44,45]. Las dispersiones coloidales así obtenidas están constituidas por hojas sencillas de óxido de grafeno-comúnmente etiquetadas como GO del inglés graphene oxide-estabilizadas por la repulsión electrostática proveniente de la carga negativa que adquieren en dispersión debido a la ionización de los grupos hidroxilos y carboxilos localizados sobre los planos y en sus extremos (ver Figura 1.8) [46].

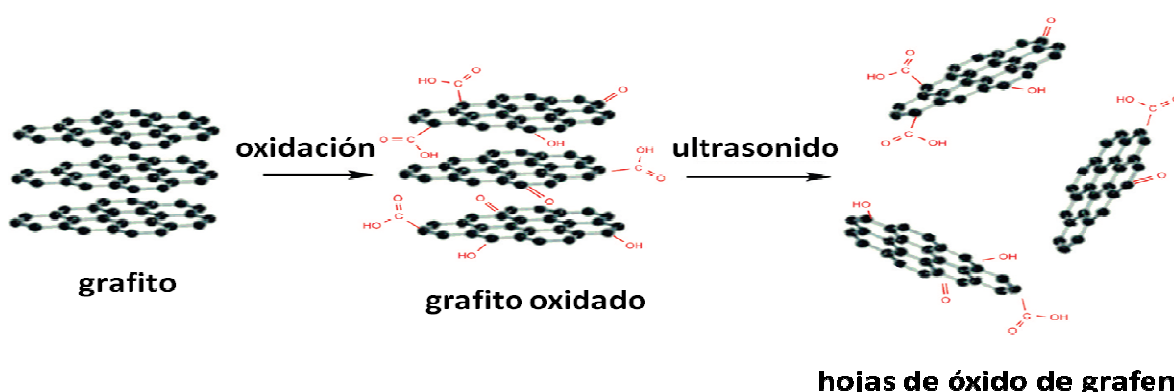


Figura 1.8 Procedimiento experimental para la obtención de dispersiones coloidales de hojas de óxido de grafeno [47].

La dilucidación de la estructura del óxido de grafeno ha sido motivo de diversos estudios [48], no obstante, el modelo de Lerf- Klinowski es el que se cree mejor le describe. En este modelo el óxido de grafeno es delineado como un material construido por segmentos aromáticos sin oxidar, de tamaños variables, que se encuentran separados entre sí por regiones oxidadas conteniendo grupos epóxicos e hidroxilos en la superficie de sus planos y grupos carbonilo y carboxilo localizados presumiblemente en los extremos de las hojas [49] como puede ser apreciado en la Figura 1.9. Estudios recientes han propuesto que este modelo contiene además grupos cetona, anillos lactona de 6 miembros y alcoholes terciarios [50].

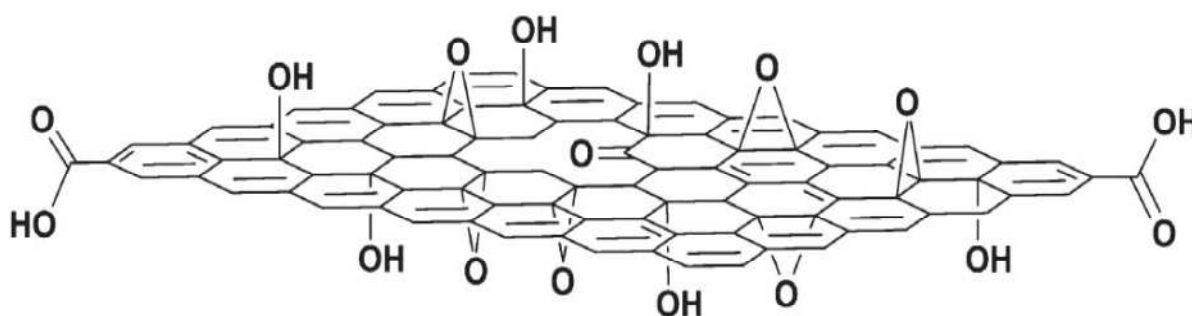


Figura 1.9 Representación esquemática de una hoja de óxido de grafeno [51].

La presencia de los grupos funcionales oxigenados provoca la ruptura de la malla gráfica, lo que ocasiona que el óxido de grafeno se comporte eléctricamente como un aislante. Para no mermar con ello las aplicaciones electrónicas del grafeno, es posible restaurar la conductividad eléctrica de las hojas restableciendo el sistema π mediante diferentes métodos de reducción, los cuales han sido empleados satisfactoriamente y pueden clasificarse, en lo general, en reducción química y reducción térmica [52].

1.2.3.1.1 Reducción química de grafeno oxidado

Suspensiones coloidales de hojas de óxido de grafeno pueden reducirse químicamente empleando agentes como borohidruro de sodio (NaBH_4) [53], hidroquinona [54], hidracina (N_2H_4) [44,55-61] y radiación ultravioleta [62]. Aunque esta ruta resulta eficiente para la producción de hojas de grafeno reducidas químicamente, la naturaleza tóxica y el costo de los agentes reductores ha impulsado a que rutas alternativas comiencen a ser investigadas, entre ellas, la reducción solvotermal o el empleo de agentes reductores no dañinos como el ácido cítrico [63]. La Figura 1.10 esquematiza la restauración de la red gráfica de una hoja de óxido de grafeno después del proceso de reducción.

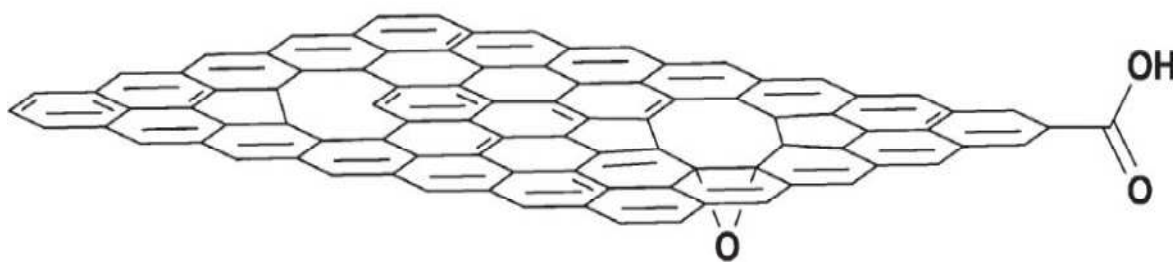


Figura 1.10 Representación esquemática de una hoja de óxido de grafeno tras el proceso reductivo donde se aprecia la restauración casi total de la red grafitica [51].

1.2.3.1.2 Reducción térmica de grafeno oxidado

La reducción térmica de óxido de grafito es un proceso que requiere del calentamiento rápido de polvo de grafito oxidado a elevadas temperaturas y en condiciones inertes. La exfoliación está asociada con la expansión térmica de los gases como el CO_2 que se forman por la descomposición de grupos funcionales hidroxilos y epóxicos y que vencen las fuerzas de van der Waals que mantienen a las hojas grafiticas juntas provocando su delaminación [64-67]. El material así obtenido es corrientemente etiquetado como TRG del inglés thermally reduced graphene oxide.

Tras los procesos de reducción química y térmica y, presumiblemente por la restauración de los enlaces de tipo sp^2 de la red grafitica, la conductividad eléctrica es enormemente mejorada con valores de $2 \times 10^2 \text{ S/m}$ y $1\text{-}2.3 \times 10^3 \text{ S/m}$ respectivamente; estos resultados son 5 órdenes de magnitud mejor que para el óxido de grafeno y se encuentran cercanos a los valores de grafito puro [44,64].

Hasta aquí hemos discutido sobre las propiedades del grafeno y lo relativo a la remoción de los grupos funcionales oxigenados que su precursor, las láminas de óxido de grafeno, presentan. Dependiendo de la aplicación que se requiera, la elección de grafeno o grafeno oxidado debe ser hecha. Para aplicaciones electrónicas, la pureza y cristalinidad del grafeno resultan ser la mejor opción. Si la calidad de la red no se manifiesta como un factor decisivo, el óxido de grafeno enuncia su utilidad. Ambos, grafeno y grafeno oxidado presentan atractivas propiedades; empero, los grupos funcionales de la forma oxidada pueden ser utilizados para la adición de nuevas especies moleculares lo que abre la puerta a nuevas aplicaciones. En adelante discutiremos la funcionalización y la aplicación del grafeno oxidado que se realizaron en este trabajo de tesis.

1.3 Grafeno oxidado

El óxido de grafeno es, en esencia, una hoja de grafeno con una distribución azarosa de funcionalidades ricas en oxígeno sobre su superficie. A pesar de los defectos que estos grupos generan en las laminillas del grafeno, las hojas oxidadas conservan casi intactas sus propiedades mecánicas mostrando valores de módulos de Young tan elevados como 0.25 TPa [68]. Estas características estructurales permiten que el sistema sea fácilmente dispersado en medio acuoso y en una amplia variedad de solventes. La repulsión electrostática y la solvatación del grafeno provista por dichas funcionalidades representan la piedra angular en la química de este material.

1.3.1 Funcionalización del grafeno oxidado

Los grupos epóxidos e hidroxilos localizados en la superficie de las hojas del grafeno y los ácidos carboxílicos ubicados en sus fronteras actúan como sitios de anclaje químico para diversas moléculas orgánicas e inorgánicas. La introducción de especies moleculares específicas sobre el grafeno puede ser obtenida a través de dos aproximaciones: la formación de enlaces covalentes o la interacción no covalente [69].

1.3.1.1 Interacción covalente

La unión covalente de una molécula sobre la superficie del grafeno involucra la ruptura de los enlaces con hibridación sp^2 y la formación de enlaces sp^3 . Durante este proceso se generan electrones desapareados que originan una reacción en cadena desde el punto de inicio del enlace covalente y sobre la red conjugada, mejorando, de esta manera, la reactividad. Otro aspecto importante a considerar es la geometría de ciertas regiones en la lámina de grafeno pues dependiendo de la configuración de sus fronteras (zig.zag o sillón) se favorece o no la reactividad sobre la zona. Paralelamente, Dreyer y colaboradores explican que este tipo de funcionalización se puede dar, mediante mecanismos particulares, sobre los grupos carboxilos o sobre los epóxidos [70,71].

1.3.1.1.1 Funcionalización covalente sobre los ácidos carboxílicos del grafeno oxidado

La reacción de funcionalización sobre los ácidos carboxílicos típicamente requiere de una activación previa y la adición ulterior de especies nucleofílicas produce el enlace covalente

mediante la formación de amidas o esteres. La introducción de aminas sustituidas es un método común de funcionalización covalente que a su vez mejora la dispersión del grafeno en solventes orgánicos. Además de estas moléculas, los polímeros pueden injertarse covalentemente sobre la superficie del grafeno generando macromoléculas bidimensionales y para lograrlo se valen de las siguientes metodologías.

1.3.1.1.1 Método “grafting to”

La aproximación “grafting to” se basa en la unión de moléculas poliméricas usadas directamente como fueron preparadas mediante reacciones químicas de amidación, esterificación, unión de radicales, etcétera. El polímero debe tener grupos funcionales reactivos que favorezcan la reacción. Las ventajas de este método son la simplicidad y la viabilidad de reacción cuando el espécimen es sensible a las condiciones de polimerización. Por otro lado, tiene por desventaja que la cantidad de polímero injertado es baja, sobre todo cuando existen impedimentos estéricos [72-73].

1.3.1.1.2 Métodos “grafting from”

En el método “grafting from” el polímero se une a la superficie de la molécula de interés por polimerización in situ de monómeros en presencia de reactivos o iniciadores soportados. La reacción se lleva a cabo mediante la polimerización de transposición de abertura de anillo y por polimerización controlada de radicales libres. La principal ventaja de esta aproximación es la elevada cantidad de polímero injertado [72].

1.3.1.1.2 Funcionalización covalente sobre los grupos epóxidos del grafeno oxidado

Los grupos epóxidos, localizados en los planos basales del grafeno, pueden ser modificados fácilmente mediante reacciones de apertura del anillo. Esta reacción involucra el ataque nucleofílico por una amina. Una extensión de este concepto involucra la aplicación de este conocimiento en la estabilización de las hojas de óxido de grafeno al suspenderlas en líquidos iónicos con terminaciones amina.

1.3.1.2 Interacción no covalente

Las interacciones no covalentes se basan en el apilamiento π - π de moléculas aromáticas sobre la lámina de grafeno; sobre las interacciones de tipo van der Waals; y sobre las interacciones π -iónicas. La ventaja de este tipo de funcionalización radica en que no se provoca ninguna ruptura en la red conjugada π y que ambos, grafeno y grafeno oxidado, pueden disponer de este tipo de apilamiento π - π .

El entendimiento de esta clase de interacciones ha provisto ya la generación de derivados de grafeno y grafeno oxidado. Como ejemplo de la utilidad de estas estructuras, hojas de grafeno fueron funcionalizadas con Poli-Llisina la cual les proveyó solubilidad en medio acuoso y biocompatibilidad [74]. Una funcionalización no covalente fue la obtenida al provocar la interacción de la molécula aromática 1-pirenbutirato sobre láminas de grafeno, generando un material como película con conductividad mejorada [75]. Nanohojas de óxido de grafeno fueron covalentemente funcionalizadas con polietilen glicol dotándolas de estabilidad en medios acuosos y biológicos, así como de la habilidad para la liberación de drogas [76]. El grafeno oxidado fue entrecruzado químicamente con polialilamina generando suspensiones coloidales acuosas y muestras como papel con propiedades mecánicas mejoradas [77].

Con base en estos antecedentes teóricos nosotros funcionalizamos la superficie de las hojas de óxido de grafeno con queratina, una biomolécula extraída a partir de la pluma de pollo. Las propiedades intrínsecas que esta proteína presenta y la modificación en el comportamiento del grafeno que su interacción pudiera provocar, nos permite entrever interesantes aplicaciones.

1.3.2 Hojas de óxido de grafeno injertadas covalentemente con queratina extraída de la pluma de pollo

Las proteínas son biopolímeros cuyos monómeros son los α -aminoácidos y presentan una vasta variedad de funciones biológicas, entre ellas, estructurales, de expresión de información genética y de transporte [78,79].

La queratina es una proteína fibrosa que tiene por función dar soporte y forma a las estructuras que la contienen y consiste de cadenas polipeptídicas formadas por la

condensación de distintos aminoácidos. Estas cadenas poseen un gran número de enlaces disulfuro y residuos de aminoácidos hidrofóbicos que le confieren insolubilidad en solventes orgánicos y estabilidad química. El arreglo autoensamblado de su estructura, por su parte, le proporciona propiedades mecánicas de fuerza y flexibilidad [80].

La conformación estructural de la queratina es diversa, no obstante, con base al patrón de difracción de rayos X que presenta pueden destacarse dos grupos: las α -queratinas que muestran una conformación helicoidal y las β -queratinas caracterizadas por una estructura en forma de hoja plegada. Ambas conformaciones se ilustran en la Figura 1.11. La α -queratina es encontrada en la epidermis de todos los amniotes mientras que la β -queratina es exclusiva de la epidermis de reptiles y aves [81,82]. Aunque la conformación predominante en aves y reptiles es la de hoja β plegada éstos pueden presentar la estructura alfa en las regiones más suaves de la piel [83].

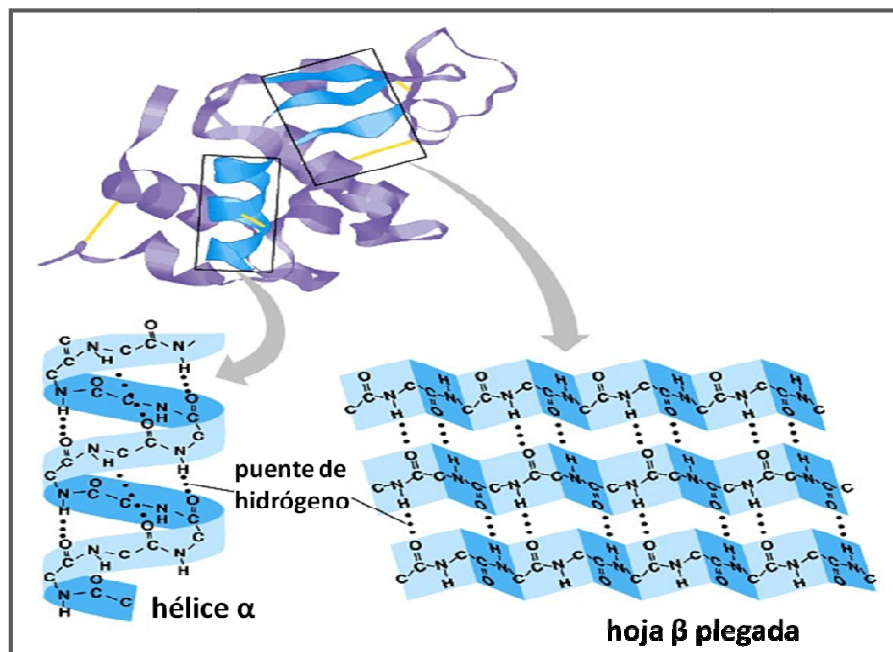


Figura 1.11 Estructura secundaria de la queratina. Las conformaciones en hélice α y hoja β plegada son las más estables y están presentes en muchas proteínas [84].

Como vimos, la queratina ocurre naturalmente en estructuras como el cabello, las uñas, los cuernos, las plumas de ave y la epidermis de los reptiles. Esto resulta particularmente interesante pues estudios recientes han mostrado que los geckos pueden trepar superficies verticales gracias a dispositivos adhesivos altamente eficientes llamados “setas” los cuales están constituidos de grades paquetes de β -queratina [85].

A la luz de estas propiedades, en este trabajo aprovechamos las características de adhesión y el amplio número de grupos funcionales colgantes, hidroxilos, tioles y carboxilos que la proteína presenta para generar un material nuevo de hojas de grafeno modificadas con un polímero natural, primero; y para mejorar el contacto interfacial al integrarlo como refuerzo en una matriz polimérica, después.

1.4 Materiales nanocompuestos: principal área de aplicación del grafeno funcionalizado

Un material compuesto es un material multifase formado por la mezcla o combinación de dos o más constituyentes que difieren en forma y composición química y que son esencialmente insolubles entre sí. Así pues, los nanocompositos poliméricos consisten de una matriz polimérica, o fase continua, y de una fase discontinua, o refuerzo, en el que al menos una de sus dimensiones es menor a 100 nm. La importancia de estos materiales radica en que al combinar dos componentes para formar un tercero, este último exhibe propiedades superiores a las de los constituyentes por separado [86,87].

El efecto sinérgico de las propiedades del material resultante está circunscrito a la dispersión homogénea del refuerzo en la matriz. Las estructuras nanométricas tienden a agregarse, con lo cual, invalidan los beneficios asociados con la dimensión nanoscópica. Para sortear este desafío, la modificación superficial del nanorefuerzo es necesaria. La interacción entre la matriz y el refuerzo esta mediada por las funcionalidades de la superficie de la estructura nanométrica las cuales influyen considerablemente sobre la distribución espacial y la adhesión interfacial.

Con esto en mente, es de esperarse que el ámbito de los nanocompositos poliméricos sea, quizá, el área de aplicación más importante para el grafeno oxidado y el grafeno funcionalizado.

1.4.1 Nanocompositos poliméricos reforzados con grafeno oxidado

Atendiendo a la naturaleza de la fase continua o matriz polimérica, los nanocompositos pueden clasificarse como de matriz sintética o natural. Importantes mejoras en una plétora de propiedades han sido ya obtenidas al utilizar grafeno y grafeno oxidado como nanorefuerzo en matrices poliméricas sintéticas.

1.4.1.1 Matrices poliméricas sintéticas

El grafeno, utilizado como nanorefuerzo, abrió una nueva dimensión para la producción de materiales compuestos de alta actuación, de bajo costo y ligereza. Desde el temprano 2006 Ruoff R. S. y colaboradores [88] lograron sintetizar un material compuesto de poliestireno (PS) reforzado con grafeno mostrando excelentes propiedades eléctricas. Posteriormente, grafito expandido (EG) y hojas de grafeno funcionalizadas (FGS) fueron incorporadas como nanorefuerzos a polimetilmetacrilato (PMMA), poliácridonitrilo (PAN) y poliácido acrílico (PAA) con propiedades térmicas y mecánicas que compiten de cerca con los valores reportados para composites reforzados con nanotubos de carbono de pared sencilla [89].

A la fecha nanocompositos reforzados con grafeno, grafeno oxidado y diversos derivados funcionalizados han sido incorporados a múltiples matrices sintéticas, a saber, resina epóxica, polianilina (PANI), poli vinil alcohol (PVA), poliuretano (PU), poli vinil fluoruro (PVDF), polietil teraftalato (PET) y policarbonato (PC) mostrando una mejora significativa en la mayoría de sus propiedades [90].

No obstante, los polímeros citados son obtenidos, sobre todo, por síntesis directa de sustancias derivadas del petróleo lo que les confiere versatilidad estructural, estabilidad química y una elevada resistencia al deterioro ambiental. Sin embargo, estas mismas propiedades han generado un abuso en el uso de estos materiales plásticos provocando un grave problema de contaminación ambiental lo que, aunado a la depleción de las fuentes de petróleo, ha estimulado la investigación científica con el objeto de reemplazarlos por otros que sean más amigables con el medio ambiente.

Congruentes con esta demanda ambiental nuestra investigación se centró en el desarrollo de nanocompositos de matrices poliméricas naturales. Los biopolímeros presentan un gran número de grupos funcionales reactivos, particularmente hidroxilos, carboxilos y amino que contribuyen a su diversidad en estructura y propiedades. En adelante estudiaremos al almidón, la carboximetilcelulosa y el quitosano como materia prima para la síntesis de nuestras matrices y haremos uso de los grupos funcionales hidroxilo y amino que se encuentran en sus cadenas como sitios de anclaje químico para el grafeno oxidado y el grafeno oxidado funcionalizado con queratina.

1.4.1.2 Matrices poliméricas naturales

A lo largo de millones de años la evolución ha dotado a los organismos vivos de las moléculas biológicas que le permitan desarrollar u optimizar múltiples funciones con la finalidad de preservar la vida. Gran parte de las moléculas biológicas son macromoléculas, es decir, biopolímeros. Los polisacáridos, las proteínas y los ácidos nucleicos (nivel de estructura 2 en la Figura 1.12) son los biopolímeros que constituyen prácticamente toda la materia sólida de cualquier tipo de célula.

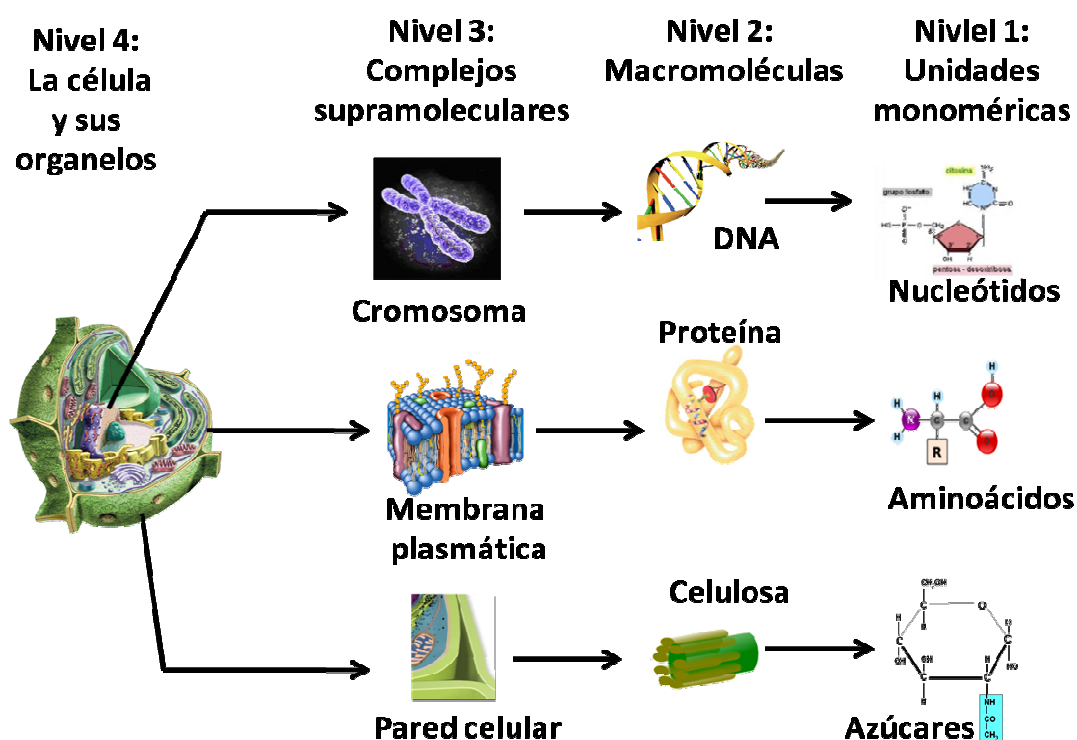


Figura 1.12 Niveles de organización estructural de una célula. Las macromoléculas, señaladas en el nivel de organización 2, son polisacáridos, proteínas y ácidos nucleicos. Todas ellas se construyen, a su vez, por una serie de unidades monoméricas simples.

1.4.1.2.1 Polisacáridos

De los biopolímeros arriba presentados nos concretaremos a los polisacáridos. Los polisacáridos son las macromoléculas más abundantes en la biosfera y como carbohidratos complejos se encuentran constituidos de unidades monosacáridas unidas mediante enlaces glucosídicos. Se les encuentra como elemento estructural de plantas y exoesqueleto de animales (celulosa, quitina, carragenina) o teniendo una participación clave en el almacenamiento de energía (almidón, glucógeno, etc.) [91].

1.4.1.2.1.1 Almidón

El almidón es la principal reserva de energía en células vegetales y se encuentra en el interior de los cloroplastos formando acumulados o gránulos de gran tamaño. Este compuesto es especialmente abundante en tubérculos como la papa y en cereales como el maíz, el arroz y el trigo. Los gránulos o acumulados de almidón varían se componen por lo general de dos homopolímeros de glucosa: amilosa y amilopectina.

La amilosa es un polímero lineal formado por un gran número de unidades de D-glucosa unidas mediante enlaces glucosídicos $\alpha(1,4)$. El enlace α de la amilosa tuerce la cadena del polímero en forma helicoidal. Este torcimiento aumenta los puentes de hidrógeno con el agua y favorece la solubilidad (ver Figura 1.13) [92].

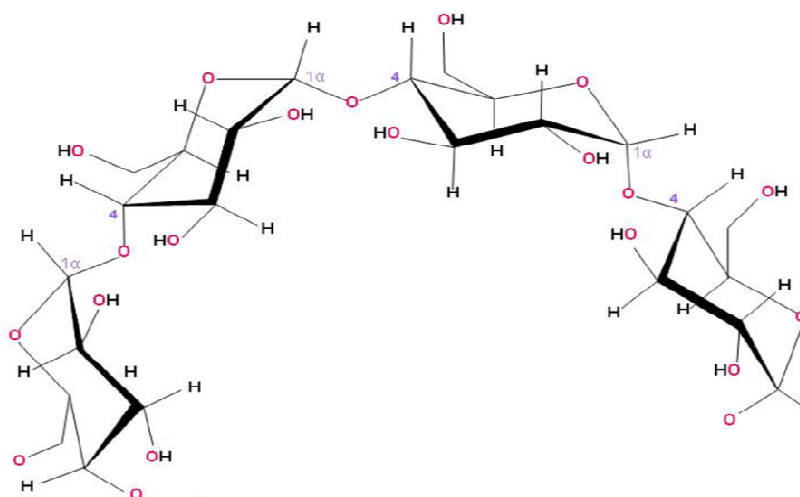


Figura 1.13. Estructura de la amilosa. Homopolímero de glucosa con enlaces glucosídicos $\alpha(1,4)$ [93].

La amilopectina es la fracción insoluble del almidón y también es un polímero $\alpha(1,4)$ de la glucosa. Es el principal componente en peso (80%) del polímero. La diferencia entre la amilosa y la amilopectina reside en la naturaleza ramificada de ésta. Existe un punto de ramificación cada 20 a 30 unidades de glucosa. En un punto de ramificación comienza otra cadena conectada con la cadena principal por un enlace glucosídico $\alpha(1,6)$.

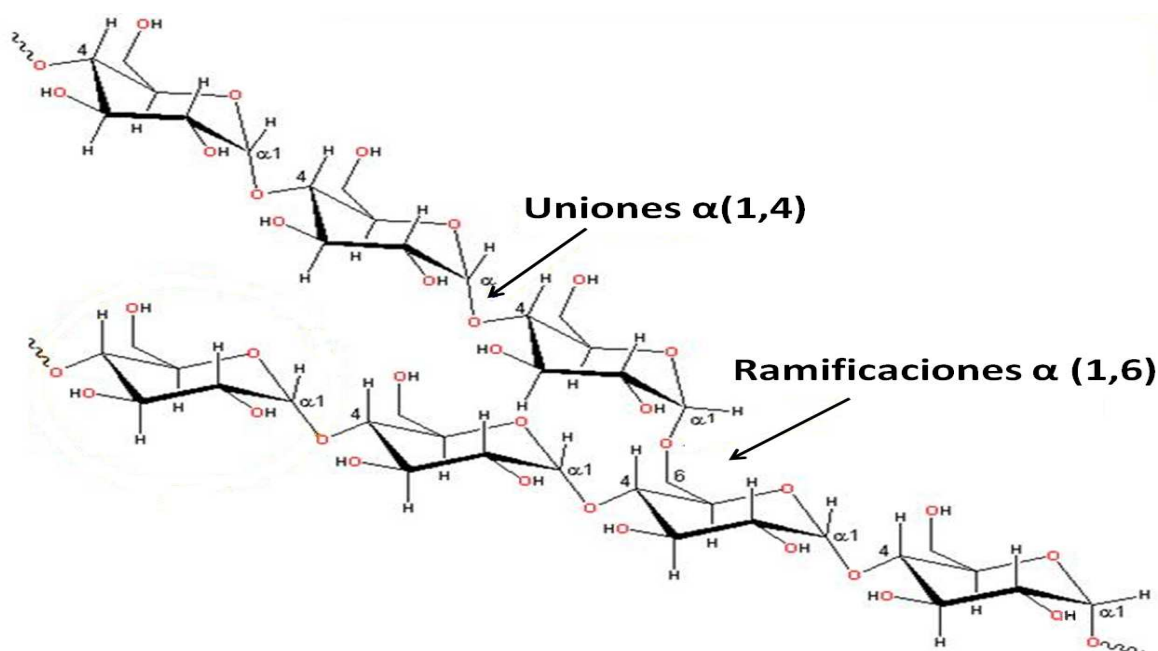


Figura 1.14 Estructura de la amilopectina. Se especifican las uniones $\alpha(1,4)$ del polímero y los puntos de ramificación con enlaces glucosídicos $\alpha(1,6)$ [94].

El almidón, por ser una materia prima abundante y de bajo costo, biodegradable, no tóxica y con excelentes propiedades de barrera de gas presenta gran atractivo para su uso en el campo de los plásticos biodegradables y en materiales para la agricultura, la medicina y la industria de empaque.

1.4.1.2.1.2 Carboximetil celulosa: derivado hidrosoluble de la celulosa

La celulosa es el biopolímero natural más abundante y se encuentra rápidamente disponible a partir de fuentes renovables. Es el componente estructural de la pared celular de las plantas y así como de muchas formas de algas y especies de hongos. La celulosa está constituida por unidades de D-glucosa conectadas mediante enlaces glucosídicos $\beta(1,4)$ como se aprecia en la Figura 1.15. Esta disposición de las uniones provee a la celulosa de elevada linealidad que resulta en moléculas semejantes a varillas rígidas y estables que se emplean como material estructural.

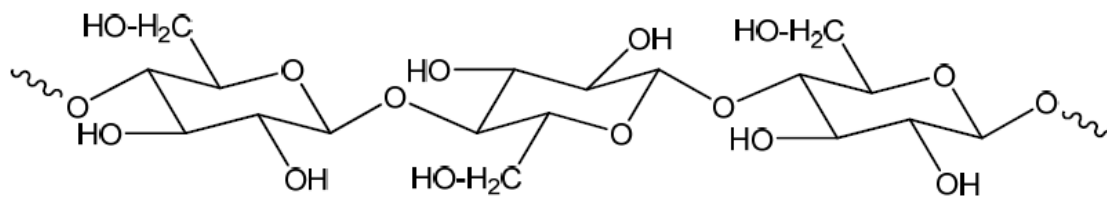


Figura 1.15 Estructura molecular de la celulosa [95].

La abundancia de grupos hidroxilos en la cadena de celulosa favorece la formación de enlaces de hidrógeno inter e intracatenarios. La fortaleza de los enlaces hidrógeno intercatenarios provocan que la celulosa sea insoluble en la mayoría de los solventes lo que limita su procesabilidad [96]. Para eludir este inconveniente la celulosa es modificada para obtener carboximetil celulosa de sodio. La estructura de la carboximetil celulosa es mostrada en la Figura 1.16.

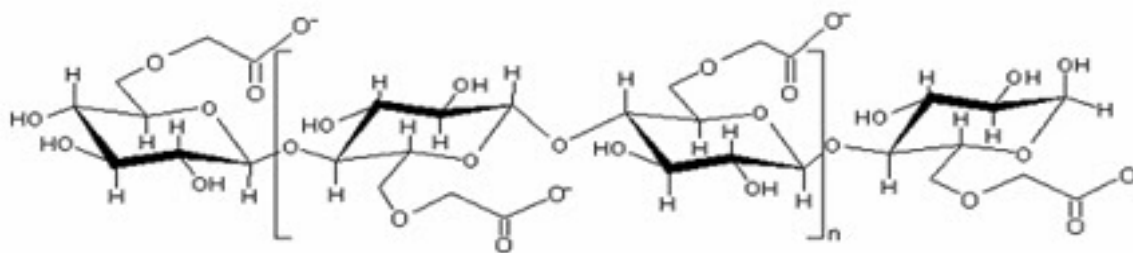


Figura 1.16 Estructura molecular de la carboximetil celulosa en la que un hidrógeno del hidroxilo de la celulosa es sustituido por un grupo carboximetilado [97].

La carboximetil celulosa se define, entonces, como un polímero lineal aniónico en el cual el átomo original de H del grupo hidroxilo de la celulosa es remplazado por un sustituyente carboximetilado ($-\text{CH}_2\text{COO}^-$) lo que le provee completa solubilidad en agua [98]. Las propiedades de solubilidad, biocompatibilidad y no toxicidad evocan considerable interés para diversas aplicaciones en la industria de comida, médica y farmacéutica.

1.4.1.2.1.3 Quitosano: el derivado deacetilado de la quitina

La quitina es un homopolisacárido ampliamente distribuido en la naturaleza y después de la celulosa el segundo en abundancia. Es comúnmente encontrado en el exoesqueleto de crustáceos marinos, alas de insectos y paredes celulares de hongos. La quitina es un polímero lineal compuesto por residuos de N-acetilglucosamina unidos por enlaces glucosídicos $\beta(1,4)$ que le proporcionan rigidez estructural, fuerza y estabilidad (Figura 1.17).

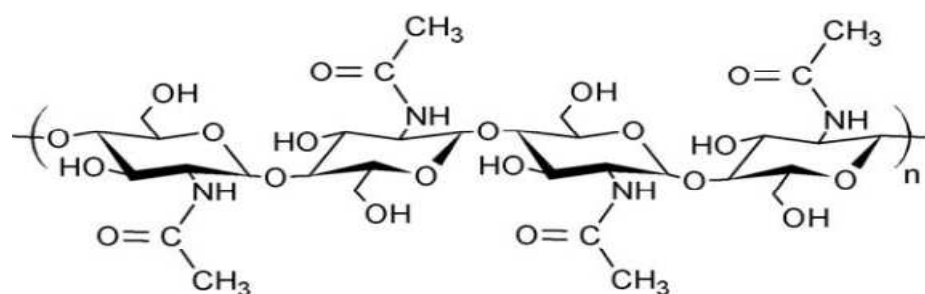


Figura 1.17 Estructura química de la quitina donde se aprecia que el grupo hidroxilo del carbono dos de la glucosa se encuentra sustituido por un grupo amino acetilado y que constituye la única diferencia estructural respecto a la celulosa [99].

El quitosano, contrario a la quitina, se encuentra de forma natural solo en algunos hongos y en la pared abdominal de la termita reina [100]. La fuente principal a nivel industrial de este polisacárido es la quitina cuya deacetilación permite obtenerlo. Empero, la deacetilación casi nunca es completa y la estructura del quitosano presenta una parte deacetilada y otra no. La estructura del quitosano es, por tanto, una cadena lineal aleatoria de unidades N-acetil glucosamina (parte acetilada) y D-glucosamina (parte deacetilada) unidas por la misma clase de enlaces $\beta(1,4)$ (Figura 1.18).

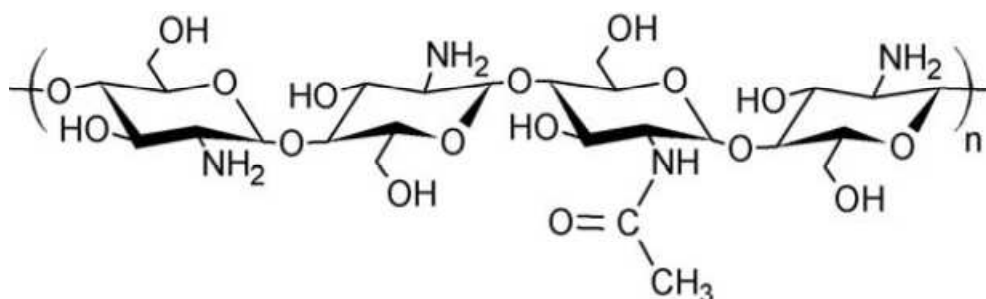


Figura 1.18 Estructura química del quitosano. Unidades D- glucosmina y N-acetil glucosamina aparecen aleatoriamente unidas por enlaces $\beta(1,4)$ [99].

El quitosano posee excelente habilidad formadora de películas, detenta propiedades fungicidas y fungistáticas, claridad óptica, estabilidad mecánica, permeabilidad a los gases, entre otras, que le aseguran importantes aplicaciones médicas, en agricultura, cosméticas y en tratamiento de agua [101].

A pesar de las ventajas individuales de cada uno de estos biopolímeros se ha reportado previamente que la combinación de ellos genera materiales con propiedades mejoradas; a la luz de esta razón nosotros trabajaremos con dos matrices quitosano/almidón y carboximetil celulosa/almidón.

HIPÓTESIS

Es posible obtener nanocompositos de matriz polimérica natural con propiedades termomecánicas mejoradas al reforzarlos con grafeno oxidado y grafeno oxidado injertado con queratina. La efectividad en la transferencia de carga se debe al eficiente contacto interfacial generado entre los grupos colgantes presentes en la estructura de ambos refuerzos y la matriz.

OBJETIVO GENERAL

Contribuir al desarrollo de la tecnología de los nanocompositos de matriz polimérica utilizando como refuerzo grafeno oxidado y grafeno oxidado injertado con queratina.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Obtener hojas de óxido de grafeno a partir de grafito oxidado y caracterizarlas estructuralmente.

Modificar la superficie de las hojas de óxido de grafeno mediante el injerto covalente de queratina obtenida a partir de la pluma de pollo. Efectuar la reacción de injerto bajo dos condiciones redox.

Caracterizar estructuralmente el material grafeno oxidado/queratina y cuantificar el injerto.

Sintetizar el nanocomposito quitosano/almidón reforzado con grafeno oxidado y grafeno oxidado injertado con queratina y caracterizarlo estructural y termomecánicamente.

Sintetizar el nanocomposito carboximetil celulosa/almidón reforzado con grafeno oxidado y grafeno oxidado injertado con queratina y caracterizarlo estructural y termomecánicamente.

CAPÍTULO 2

Metodología y caracterización estructural

La producción a gran escala de cualquier material naciente constituye uno de los retos más desafiantes para la investigación. Como ha quedado dicho en el capítulo precedente la obtención de grafeno a partir de derivados gráfiticos, específicamente grafito oxidado, constituye, al momento, la estrategia principal para la obtención de este nano material. En este trabajo de tesis nos circunscribimos específicamente a la preparación de grafeno oxidado mediante esta vía, la cual, permite obtener cantidades considerables de material y una elevada capacidad de procesamiento facilitada por la dispersión acuosa en la que el producto es obtenido.

2.1 Metodología para la obtención de hojas de óxido de grafeno

2.1.1 Grafito

Grafito cristalino en forma de barras de 12 pulgadas de longitud y $\frac{1}{4}$ de pulgada de diámetro fue proporcionado por Electron Microscopy Sciences. Las barras de grafito fueron ulteriormente pulverizadas y tamizadas en una malla con luz 300.

2.1.2 Preparación de grafito oxidado

El óxido de grafito fue preparado a partir del grafito utilizando el método de Hummers modificado de acuerdo con la literatura reportada por Stankovich et al [35]. Brevemente, 46 ml de ácido sulfúrico concentrado (H_2SO_4) fueron colocados en un matraz de tres bocas de 250 ml previamente dispuesto en un baño de hielo. Cuando la temperatura del ácido sulfúrico disminuyó a 0°C el grafito en polvo (2 gramos) fue adicionado. La suspensión se mantuvo en agitación y en baño de hielo mientras 6 g de permanganato de potasio (KMnO_4) fueron gradualmente añadidos de modo que la temperatura no excediera de 20°C . Posteriormente, la mezcla se retira del baño de hielo y es agitada por 2 h a 35°C . En seguida, 92 ml de agua destilada fueron incorporados provocando un aumento de temperatura a 98°C . La agitación se mantuvo durante 15 minutos. Después de esto, la mezcla fue vaciada en un contenedor con 280 ml de agua destilada y 10 ml de una solución al 30% de peróxido de hidrógeno (H_2O_2) fue agregada con la finalidad de destruir el KMnO_4 residual. El óxido de grafito fue aislado mediante centrifugación y lavado, primero, con una solución de ácido clorhídrico en agua (1:10 v/v) y, posteriormente, con agua desionizada hasta alcanzar un pH cercano a la neutralidad. El polvo de óxido de grafito es secado en estufa a 75°C durante 24 h. El procedimiento mostrado en la Figura 2.1 ilustra los pasos más representativos de la oxidación.

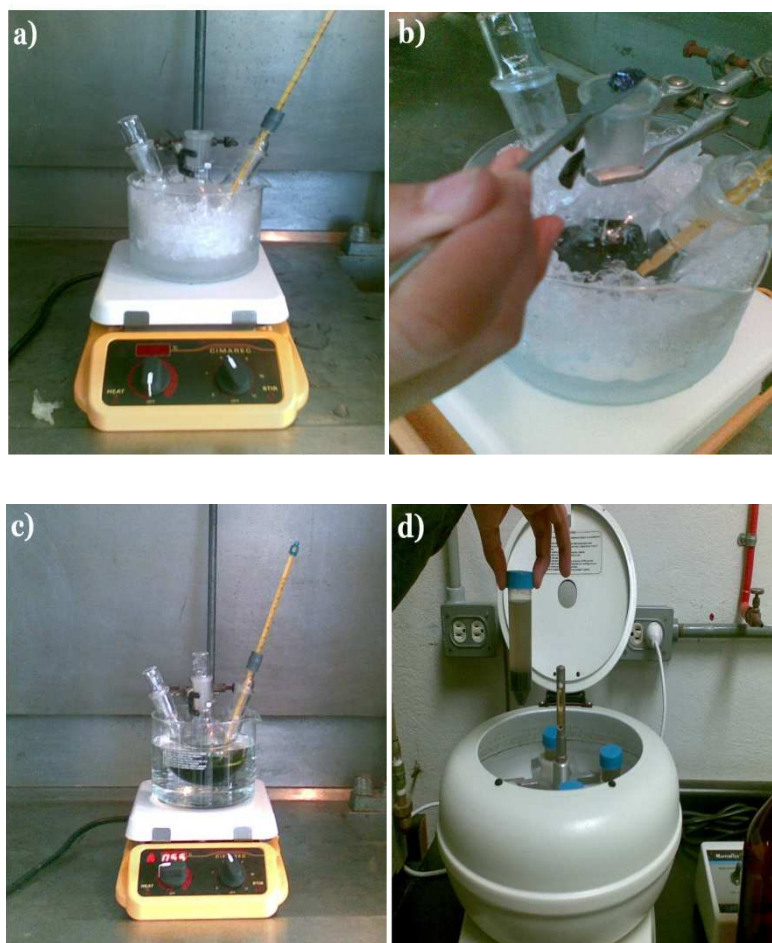


Figura 2.1 Resumen en imágenes del proceso de oxidación del grafito. (a) Mezcla de H_2SO_4 y grafito en baño de hielo. (b) Incorporación gradual del KMnO_4 . (c) Reacción oxidativa a 35°C por 2h. (d) Aislamiento y lavado del grafito oxidado.

2.1.3 Obtención de suspensiones de hojas de óxido de grafeno

Para la preparación de suspensiones de hojas de óxido de grafeno el grafito oxidado seco fue molido en un mortero de ágata hasta obtener un polvo fino. Enseguida, 15 mg de grafito oxidado fueron agregados a un frasco de vidrio conteniendo 30 ml de agua desionizada (0.5mg/ml) y la suspensión fue sometida a ultrasónido durante 3 horas [37]. Posteriormente, la suspensión es filtrada a través de un filtro de membrana Whatman (47 mm de diámetro, $0.2\text{ }\mu\text{m}$ de tamaño de poro) y el filtrado se deja secar durante 24 horas [102]. Finalmente el polvo es raspado de la membrana y almacenado para su consecuente caracterización. La Figura 2.2 muestra fotografías digitales de las suspensiones de grafito oxidado con una concentración de 0.5 mg/ml y el equipo utilizado para lograr su exfoliación.

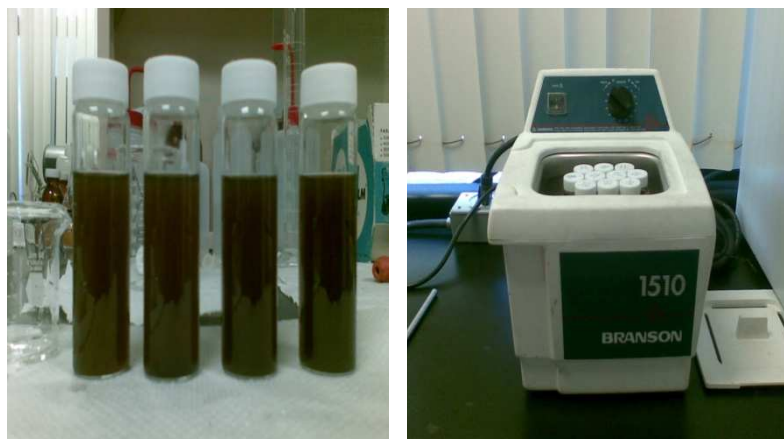


Figura 2.2 A la izquierda, suspensiones de hojas de óxido de grafito [0.5 mg/ml]. A la derecha, equipo de baño ultrasónico en el que las hojas de óxido de grafeno son exfoliadas.

2.2 Extracción de queratina presente en la pluma de pollo

El esqueleto de una proteína está compuesto por una secuencia de aminoácidos unida mediante enlaces fuertes de tipo covalente. El arreglo espacial de los átomos de una proteína se denomina conformación y ésta se encuentra estrechamente ligada con la función de la misma. Cuando una proteína se encuentra en su conformación funcional plegada se denomina nativa. Diversas interacciones químicas estabilizan la conformación nativa en las proteínas, entre ellas, el enlace disulfuro e interacciones débiles como puentes de hidrógeno. El enlace disulfuro permite la formación de enlaces covalentes en una misma cadena polipeptídica o entre dos cadenas proteicas distintas [75]. Los puentes de hidrógeno, aunque débiles, son numerosos y tiene un efecto acumulado significativo reflejado como fuerza estabilizadora de la estructura.

La queratina de la pluma de pollo posee como rasgo distintivo la ocurrencia de una gran cantidad de aminoácidos cisteína presentes en la forma del aminoácido dimérico cistina unido por puentes disulfuro. El entrecruzamiento de puentes disulfuro y la abundancia de residuos hidrofóbicos confieren a la queratina su carácter insoluble. Diversos procedimientos para solubilizar la queratina de la pluma han sido reportados, empero, algunos involucran la ruptura de numerosos enlaces peptídicos [103,104]. Un procedimiento menos agresivo involucra el uso de tioles y urea para la escisión de puentes disulfuro e hidrógeno sin la ruptura significativa de enlaces peptídicos [104]. Tal procedimiento es utilizado en este trabajo y lo detallaremos a continuación.

La biofibra es obtenida a partir de la pluma de pollo la cual es sometida a un proceso de lavado, secado y separación mecánica [105]. En un vaso de precipitados (ver Figura 2.3) se solubilizaron 3 gramos de biofibra en una mezcla de 75 ml de agua destilada, 8M de urea 98%, 3 mM de sal disódica del ácido etilendinitrilo-tetracético (EDTA) 90%, 125 mM de 2-mercaptoetanol 98% y 200 mM de hidroximetil-aminometano (Tris) 97%. La mezcla es sometida a una agitación controlada durante 24 horas a temperatura ambiente tras lo cual se obtiene una solución estable de queratina. La queratina extraída posee las sales de urea y 2-mercaptoetanol utilizadas en la reacción las cuales deben eliminarse mediante un proceso de diálisis.



Figura 2.3 Fotografía digital de la obtención de la sal de queratina.

2.2.1 Obtención de queratina dializada

Después de la reacción, 10 ml de la solución de queratina se colocan en el interior de una membrana de diálisis que posteriormente es sellada en sus extremos (ver Figura 2.4). La membrana se introduce en un matraz con 1 litro de agua destilada y se mantiene bajo agitación durante 3 días. El agua debe remplazarse cada 24 horas. Al finalizar la diálisis un gel opaco y blanco es obtenido producto de la re-oxidación de los residuos cisteína y de la agregación de las cadenas polipeptídicas de queratina.



Figura 2.4 Proceso de diálisis de la sal de queratina

2.3 Hojas de óxido de grafeno injertadas covalentemente con queratina

Como ha quedado patente en el capítulo previo la queratina exhibe importantes propiedades de estabilidad química, flexibilidad, fortaleza mecánica y adherencia. Con el propósito de aprovechar estas características inherentes a la proteína para modificar el comportamiento de los nanomateriales y mejorar la interacción con moléculas biológicas o aumentar la interacción interfacial en diversos materiales nanocompuestos, hojas de óxido de grafeno fueron injertadas covalentemente con queratina. El proceso de injerto está basado en una reacción heterogénea producida por la formación de radicales en el esqueleto del biopolímero que actúan como sitios de anclaje para diversas estructuras tal y como lo señala Martínez Hernández y colaboradores [106].

En el proceso de injerto la formación de radicales libres en la molécula de proteína es iniciada bajo un sistema de oxidación-reducción de ácido málico/ KMnO_4 en medio ácido (H_2SO_4). La queratina posee diversos grupos funcionales como $-\text{NH}_2$, $-\text{COOH}$, $-\text{SH}$ y $-\text{OH}$ los cuales son susceptibles de formar radicales que buscarán estabilizarse mediante uniones covalentes con los grupos colgantes del grafeno oxidado. Algunos mecanismos de reacción son propuestos por Martínez Hernández en donde el ácido málico es transformado en un radical libre por acción del agente oxidante Mn(III) o bien, este agente actúa sobre los enlaces peptídicos o grupos colgantes del biopolímero.

Con este fundamento teórico y tomando como base trabajos previos en nanotubos de carbono [107] se realizó el injerto bajo la siguiente metodología: Una suspensión acuosa (12.5

mg/ml) de hojas de óxido de grafeno fue colocada en un matraz de tres bocas al que se añadió 7.5 ml de queratina dializada, 0.75 ml de ácido sulfúrico (H_2SO_4), 0.05 g de ácido málico ($\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_5$) y 0.0375 g de permanganato de potasio (KMnO_4). La reacción se efectuó manteniendo la mezcla bajo agitación constante a una temperatura de 65°C durante 3h. Este procedimiento se efectuó bajo una segunda condición del sistema de oxidación-reducción con la finalidad de observar su efecto en el injerto. La segunda condición consistió en modificar la cantidad de H_2SO_4 a 0.5 ml y de ácido málico a 0.07g permaneciendo el resto de los reactivos y las condiciones de reacción invariantes. El producto de la primera condición fue etiquetado como GOIQ1 y el de la segunda como GOIQ2. El sistema de reacción puede apreciarse en la Figura 2.5.



Figura 2.5 Fotografía digital de las reacciones de injerto de queratina sobre las hojas de óxido de grafeno. A la izquierda, reacción del injerto denominado GOIQ1. A la derecha, reacción del injerto denominado GOIQ2.

2.4 Cuantificación de queratina injertada en hojas de óxido de grafeno

La cuantificación de proteína en una muestra puede realizarse mediante varios métodos entre los que se encuentran: el análisis gravimétrico, la determinación Kjeldhal del contenido de nitrógeno y el análisis refractométrico, no obstante, estos métodos no son de uso rutinario por requerir grandes cantidades de muestra o por la dificultad de procesamiento o costo. Para propósitos prácticos, métodos espectrofotométricos o colorimétricos han mostrado excelente actuación. La Tabla 2.1 presenta los métodos colorimétricos más comunes en la cuantificación de proteína [108].

Tabla 2.1 Métodos colorimétricos para la cuantificación de proteína

Ensayo	Principio	Rango	Interferencia	Comentarios
Biuret	Reacción de Cu^{2+} con enlaces peptídicos	1-20 mg	NH_4 , Tris	Rápido, insensible
Lowry	Reacción de Cu^{2+} con enlaces peptídicos; reducción con fosfomolibdato	2-100 μg	NH_4 , compuestos mercapto	Lento, coloración inestable, depende de la composición de aminoácidos
BCA	Reacción de Cu^{2+} con enlaces peptídicos; reducción de Cu^{2+} con bicinonato	0.2-50 μg	NH_4 , EDTA	Adecuado para soluciones conteniendo detergente
Bradford	Unión del colorante azul brillante Coomassie a aminoácidos aromáticos y básicos	0.2-20 μg	Triton X-100, SDS	Rápido

La rapidez, sensibilidad y estabilidad que presenta el ensayo de Bradford lo hace, por mucho, el método más habitual en procedimientos cuantitativos de rutina y es el que utilizaremos en este trabajo de tesis.

El método de Bradford está basado en la unión del colorante azul brillante Coomassie G-250 a los residuos de aminoácidos básicos y aromáticos de la proteína bajo condiciones ácidas. El uso de este colorante se basa en la observación de que se presenta bajo dos formas coloreadas, la roja y la azul. La forma roja se convierte a la azul tras la unión del colorante a la proteína lo que permite monitorear este cambio como función de las distintas concentraciones de la misma. La unión del colorante a la proteína es un proceso muy rápido y el complejo permanece disperso en solución por un tiempo relativamente largo [109].

Para evaluar la concentración de proteína en las muestras problema es necesaria la preparación de una curva de calibración con una proteína estándar, a saber, albúmina de suero bovina (BSA 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$) la cual es utilizada en un intervalo de 0 a 4 μg . La proteína estándar es pipeteada en un lector de Elisa y mezclada con agua destilada y reactivo de Bradford o colorante hasta alcanzar un volumen final de 200 μl como puede ser apreciado en la Tabla 2.2. Estas soluciones son ensayadas por duplicado e incubadas a temperatura ambiente durante 5 minutos. Posteriormente, la lectura es obtenida en un lector de microplato modelo 680 a 550 nm.

Tabla 2.2 Cantidades y reactivos para realizar la curva patrón para cuantificar proteínas

Concentración de proteína	Proteína estándar (μl)	H ₂ O (μl)	Reactivo concentrado (μl)	Volumen final (μl)
0.0 μg BSA	0	160	40	200
0.5 μg BSA	10	150	40	200
1 μg BSA	20	140	40	200
2 μg BSA	40	120	40	200
3 μg BSA	60	100	40	200
4 μg BSA	80	80	40	200

Los datos de la curva de calibración son graficados y el coeficiente de correlación muestral R^2 es obtenido para determinar la fuerza de la relación lineal entre la concentración de proteína conocida y la absorbencia [110].

En paralelo con la curva de calibración y bajo las mismas condiciones la concentración de queratina es determinada en las muestras problema y, para ello, una suspensión de hojas de óxido de grafeno en agua destilada es preparada con una concentración de 100 μg/ml. Una alícuota de 60 μg/ml de la suspensión es colocada en un lector de Elisa y mezclada con agua y reactivo de Bradford para obtener un volumen final de 200 μl tal y como se muestra en la Tabla 2.3. Las soluciones problema son ensayadas por cuadruplicado. Con base en la concentración de la solución y el volumen de la alícuota se estima que hay 6 μg de proteína en cada una de las suspensiones problema y, con este valor, podremos, posteriormente, determinar el porcentaje en peso de la queratina injertada.

Tabla 2.3 Preparación de las muestras problemas para la cuantificación de proteína

Nombre de la muestra	Muestra problema (μl)	H ₂ O (μl)	Reactivo concentrado (μl)	Volumen final (μl)
GOIQ1	60	100	40	200
GOIQ2	60	100	40	200

2.5 Protocolo para la elaboración de nanocompositos

La problemática provocada por el uso indiscriminado de materiales plásticos que generan un profundo impacto en términos de huella ecológica ha estimulado la búsqueda de alternativas para reemplazarlos. En este sentido los biopolímeros se vislumbran como una opción factible, sin embargo, es necesario mejorar algunas de sus propiedades para posicionarlos como materiales competitivos frente a los derivados fósiles. La tecnología de materiales nanocompuestos constituye una respuesta elegante a este requerimiento y, con este propósito, arribamos a la última etapa de este trabajo de tesis en el que se sintetizan dos tipos de nanocompositos: quitosano-almidón y carboximetil celulosa-almidón reforzados con grafeno oxidado y grafeno oxidado injertado con queratina bajo ambas condiciones de injerto. La metodología es descrita a continuación.

2.5.1 Síntesis del nanocomposito quitosano-almidón

Las películas en los dos tipos de nanocompositos fueron preparadas por el método de evaporación/fundido de solvente reportado previamente por Mathew y colaboradores [111] con ligeras modificaciones.

Las películas contienen una proporción 50:50 de quitosano/almidón debido a que en esta proporción las películas reportan buenas características físicas. La solución de quitosano (1% m/v) fue preparada dispersando 1 g de quitosano en 39 ml de una solución acuosa de ácido acético (1% v/v) bajo agitación vigorosa. Hojas de óxido de grafeno fueron dispersadas en 10 ml de la solución acuosa de ácido acético (1% v/v) usando baño ultrasónico durante 3 h. El nivel de carga de refuerzo de óxido de grafeno y de óxido de grafeno injertado con queratina fue, para todas la películas, de 0.1% y 0.5% en peso. Enseguida, una solución de almidón de maíz (1% m/v) fue preparada en agua destilada y calentada a 90°C durante 10 min bajo agitación constante. Durante el proceso de calentamiento 0.5 ml de sorbitol fue agregado como plastificante. La solución de almidón se mantiene bajo agitación constante hasta su enfriamiento a temperatura ambiente. La solución de quitosano y la dispersión de hojas de óxido de grafeno fueron agregadas a la solución fría de almidón con agitación mecánica vigorosa hasta homogeneizar.

Posteriormente, la mezcla quitosano/almidón/grafeno oxidado (Q/A/GO) fue vaciada en platos de poliestireno expandible y las películas secaron a temperatura ambiente durante

120 h. Las películas secas fueron lavadas primero con una solución acuosa 1M de NaOH durante 30 minutos y después con agua destilada por 30 minutos más. Las películas se secaron a temperatura ambiente durante 360 h y una vez secas fueron desprendidas del recipiente y almacenadas para su ulterior análisis (Figura 2.6). Las películas reforzadas con grafeno injertado con queratina fueron preparadas exactamente con el mismo método y con el mismo nivel de carga de refuerzo.

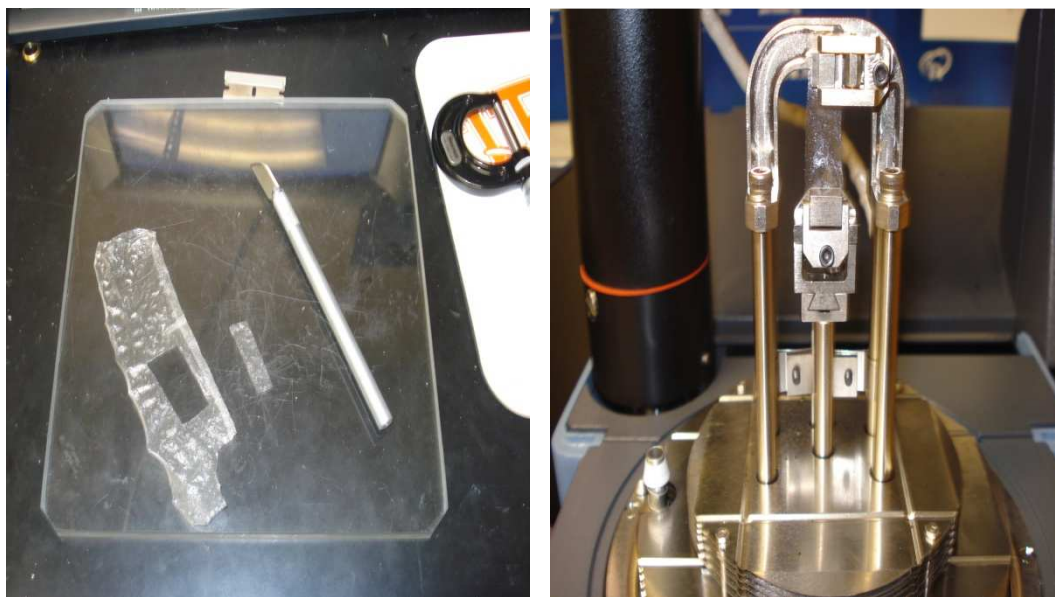


Figura 2.6 Fotografía digital de la película quitosano/almidón/grafeno oxidado reforzada a 0.1% en peso. En la imagen de la izquierda una tira de la película se encuentra sujeta en las pinzas del equipo de DMA en modo tensión

2.5.2 Síntesis del nanocomposito carboximetil celulosa-almidón

Sal de carboximetil celulosa de sodio y almidón fueron vaciados en un vaso de precipitados con 40 ml de agua destilada y la mezcla fue calentada a 90 °C durante 5 minutos bajo agitación vigorosa. Las películas contienen una proporción 70:30 de carboximetil celulosa/almidón. Análisis previos permitieron determinar que ésta es la mejor proporción para obtener una película uniforme. Durante el proceso de calentamiento 0.5 ml de sorbitol fueron agregados como plastificante. Hojas de óxido de grafeno fueron dispersadas en 10 ml de agua destilada usando baño ultrasónico durante 3 h. El nivel de carga de refuerzo de óxido de grafeno y de óxido de grafeno injertado con queratina es de 0.1% y 0.5% en peso. La solución acuosa carboximetil celulosa-almidón se mantiene bajo agitación constante hasta su

enfriamiento a temperatura ambiente. Una vez fría se mezcla con la dispersión acuosa de óxido de grafeno con agitación mecánica hasta homogenizar.

Posteriormente, la mezcla CMC/A/GO fue vaciada en platos de poliestireno expandible y las películas secaron a temperatura ambiente por 360 h. Las películas secas fueron despegadas del plato contenedor y almacenadas para su ulterior análisis (Figura 2.7). Las películas reforzadas con grafeno injertado con queratina fueron preparadas exactamente con el mismo método y con el mismo nivel de carga de refuerzo.

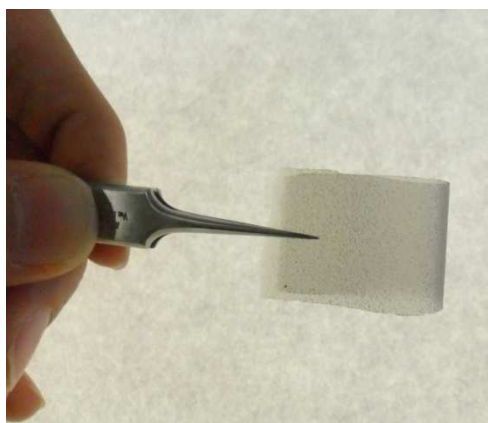


Figura 2.7 Sección rectangular de la película carboximetilcelulosa/almidón/GO a 0.1% en peso.

Con la finalidad de mostrar un resumen de las actividades involucradas a lo largo de la metodología se presenta el diagrama de flujo de la Figura 2.8.

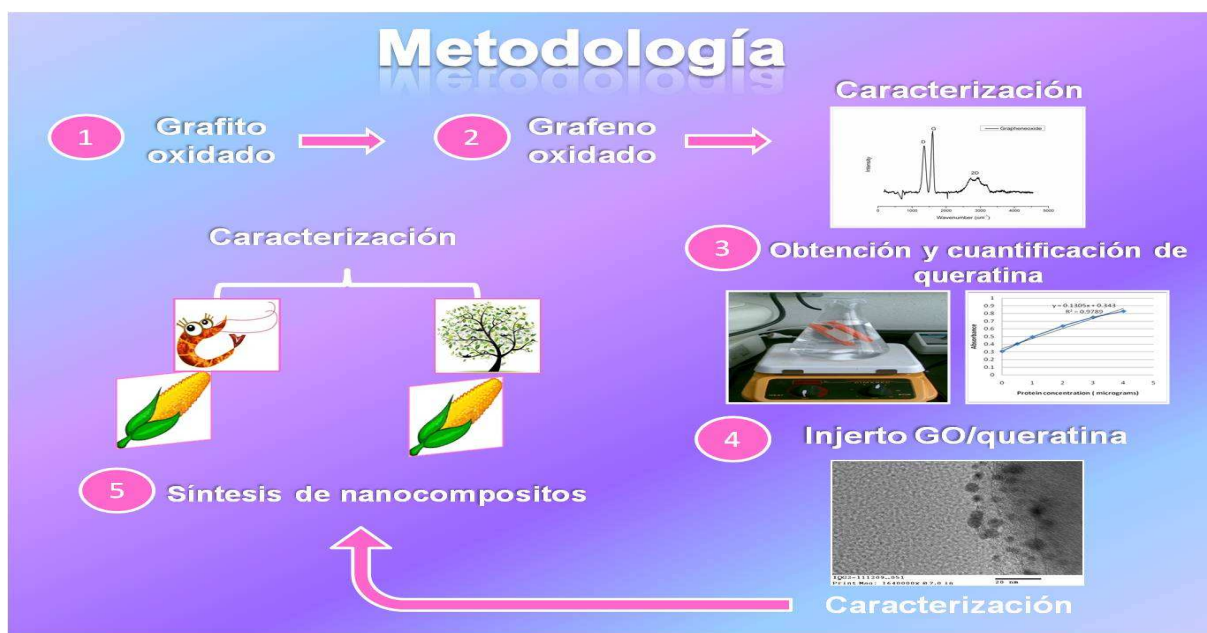


Figura 2.8 Diagrama de flujo que muestra las actividades implementadas en la metodología

2.6 Caracterización en la escala nanométrica

Aunado a la complejidad inherente involucrada en la preparación de sistemas a nivel nanométrico, se manifiesta la dificultad de observar y medir lo que ocurre en tal dimensionalidad. Las propiedades exhibidas por los materiales a escala nanométrica están estrechamente vinculadas a la geometría de la estructura, el tamaño, la composición y la naturaleza del enlace entre los átomos. La caracterización de estas propiedades nos permite establecer una correlación entre la estructura y la función y determinar cómo estos factores influyen en el desempeño final de los nanomateriales. Diversos métodos microscópicos y espectroscópicos son requeridos para tal fin y serán descritos sucintamente a continuación.

2.6.1 Espectroscopia

La espectroscopia es una familia de procedimientos que utiliza las interacciones de los fotones con la materia para caracterizarla. De esta familia de técnicas, la que a nosotros compete es la espectroscopia vibracional, concretamente la espectroscopia infrarroja y la Raman.

2.6.1.1 Espectroscopia Infrarroja con transformada de Fourier

La espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier, seguido abreviada como FTIR por sus siglas en inglés, es ampliamente utilizada para observar las vibraciones de los enlaces químicos y determinar los grupos funcionales presentes en una muestra. Esta técnica proporciona, además, información acerca del medio ambiente que circunda una identidad química y concentraciones de los diversos arreglos atómicos en la molécula [112,113].

Cuando una molécula absorbe radiación infrarroja el enlace químico que mantiene unidos sus átomos vibra. La vibración del enlace molecular puede categorizarse en dos grandes grupos: tensión y flexión. Una vibración de tensión supone un movimiento rítmico a lo largo del eje del enlace tal que la distancia interatómica aumenta o disminuye. La vibración de flexión se caracteriza por un cambio en el ángulo entre dos enlaces y puede ser de tijereteo, de balanceo, de aleteo y de torsión [114]. Los distintos tipos de vibraciones moleculares se presentan en la Figura 2.9

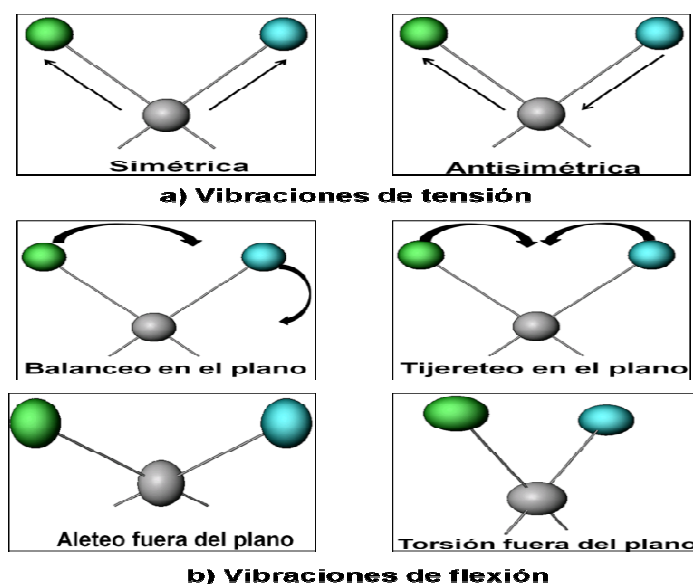


Figura2.9 Tipos de vibraciones del enlace molecular.

La mayoría de las moléculas absorben radiación infrarroja en su región media la cual es encontrada en el espectro electromagnético entre 4000 y 400 cm^{-1} . Los grupos funcionales presentan frecuencias de vibración características que se manifiestan como bandas o picos en un espectro infrarrojo y que se relacionan directamente con la estructura química de la muestra. No obstante, no todas las vibraciones absorben radiación infrarroja; para ello, una condición *sine qua non* es que el vector eléctrico de la radiación produzca un cambio en el momento dipolar de la molécula [115]. Cuando esta condición se cumple, la radiación puede interaccionar con la molécula y promocionarla a un estado vibracional excitado. Si la molécula posee un enlace simétrico o un momento dipolar cero la vibración estará ausente en el espectro.

Existen diversas técnicas para obtener un espectro infrarrojo las cuales pueden ser clasificadas a *grosso modo* en técnicas de transmisión y de reflectancia. La selección de una u otra dependerá de los requerimientos y de las características de la muestra. Dentro de la técnica de transmisión nos concentraremos en el análisis de sólidos donde el grosor o la concentración de la muestra deben ser ajustados para que una cantidad apropiada de luz la atraviese. Con este fin, las muestras se manipulan en pastillas de bromuro de potasio (KBR) que actúan como un soporte inerte y traslúcido y que facilitan la obtención del espectro. La técnica de reflectancia, particularmente la total atenuada (ATR), es el método de elección cuando las muestras son difíciles de manipular como las películas de polímeros, fibras,

etcétera. En ella el grosor del espécimen no representa un problema y por tanto la preparación de la muestra es mínima [116].

2.6.1.2 Espectroscopia Raman

La espectroscopia Raman es una técnica de caracterización que se basa en el examen de la radiación dispersada resultante de las colisiones fotón-molécula para proveer información estructural de una muestra. Esta técnica es altamente sensible a la longitud, fuerza y arreglo de los enlaces químicos en un material [L,117].

Cuando un haz de luz monocromática interactúa con una muestra la energía de la molécula es elevada de un estado basal a un “estado virtual” localizado entre el estado fundamental y el primer estado electrónico excitado. Posteriormente, cuando la molécula se relaja regresa a un nivel más bajo de energía por emisión de un fotón. Si la molécula regresa al estado electrónico original la frecuencia del fotón emitido es igual a la del fotón inicial y da lugar a la dispersión Rayleigh (Figura 2.10). Cuando el fotón emitido tiene mayor frecuencia que el fotón incidente existe una transferencia de energía de la molécula al fotón, es decir, la molécula se encuentra en un nivel superior al basal y tras la emisión la entidad química regresa al estado fundamental. Este evento se denomina dispersión Raman anti-Stokes. Si la molécula regresa a un nivel vibracional más alto que el fundamental, el fotón emitido tiene una frecuencia menor que la de la luz láser y la energía de la molécula se incrementa. Esto se conoce como dispersión Raman Stokes [117,118].

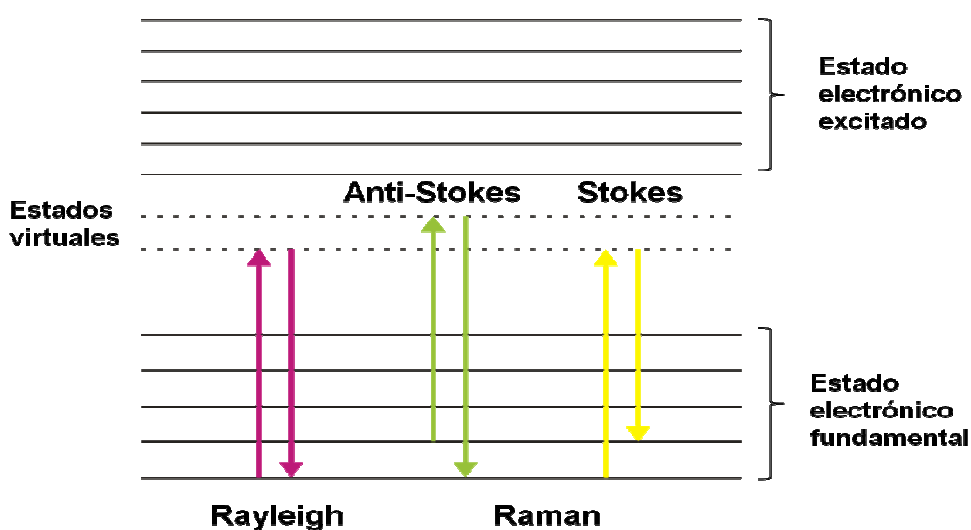


Figura 2.10 Diagrama energético en el que se muestran las dispersiones Rayleigh, Raman anti-stokes y Raman Stokes.

La dispersión Raman Stokes de una muestra es representada por un espectro o grafica usando la intensidad de la radiación Raman versus el número de onda. Por lo general algunas vibraciones inactivas en infrarrojo son activas en Raman lo que las hace técnicas complementarias. Una de las ventajas de la espectroscopia Raman sobre la infrarroja es que en aquella el análisis se realiza directamente sobre la muestra sin que sea requerida ninguna preparación especial.

2.6.2 Técnicas de microscopia

La microscopia es un conjunto de técnicas que ha emergido como herramienta indispensable para la caracterización de los nanomateriales. Con la sustitución de la luz visible como fuente de iluminación por un haz electrónico se alcanzaron poderes de resolución adecuados para la obtención de imágenes de nanoestructuras. A estos microscopios se les denomina electrónicos y dentro de éstos existen dos tipos fundamentales: el microscopio electrónico de transmisión (TEM) y el microscopio electrónico de barrido (SEM). Los microscopios de campo cercano constituyen otra familia de instrumentos que permiten obtener imágenes topográficas con verdadera resolución atómica y donde el microscopio de fuerzas atómicas (AFM) representa uno de sus principales miembros [119].

2.6.2.1 Microscopia electrónica

2.6.2.1.1 Microscopia electrónica de transmisión (TEM)

La microscopia electrónica de transmisión es una de las herramientas clave para la caracterización de nanomateriales donde un haz de electrones acelerados es utilizado para irradiar una muestra delgada con la finalidad de obtener imágenes de detalles estructurales extremadamente finos de una muestra [120].

La instrumentación de un microscopio de transmisión electrónica es compleja pero puede ser abreviada en sus componentes básicos tal como lo muestra la Figura 2.11a. Los electrones se originan en un cañón compuesto por un filamento de tungsteno y son acelerados a 100 KeV o más. Posteriormente el haz electrónico converge sobre el objeto de estudio con la ayuda de un sistema de lentes condensadores. Los electrones transmitidos a través del espécimen son enfocados en una primera imagen y magnificados, primero, por las lentes objetivo. La segunda lente o lente proyectora permite magnificar ulteriormente la imagen del

objeto creada por el objetivo y proyectarla sobre una pantalla fluorescente donde se hace visible al ojo humano. Las lentes utilizadas en este microscopio son electromagnéticas y un sistema de vacío es necesario para remover cualquier traza de moléculas de aire que puedan interferir con el flujo de electrones [121].

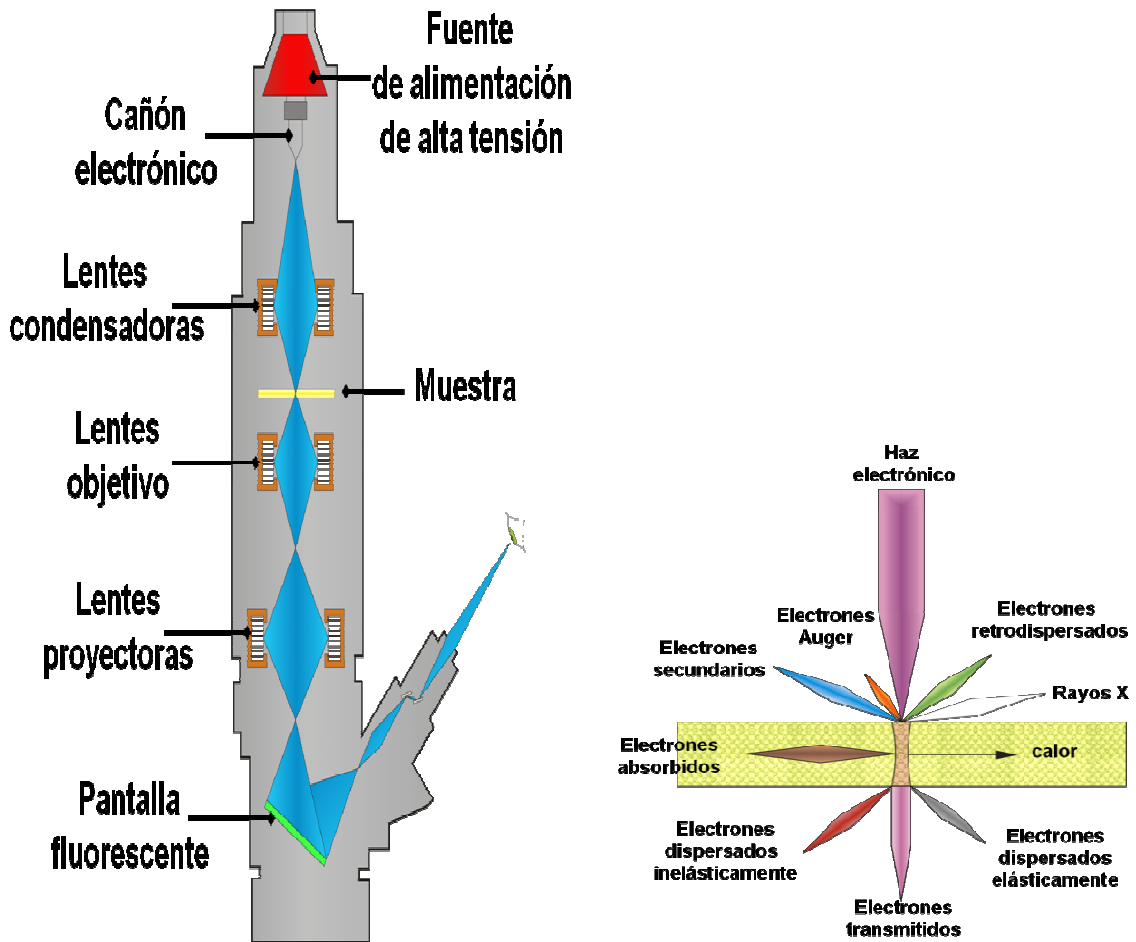


Figura 2.11 Diagrama esquemático de (a) las unidades que componen un microscopio electrónico de transmisión y (b) de la interacción haz-muestra en un espécimen delgado.

La interacción del haz de electrones con la superficie del espécimen provoca que éstos sufran una variedad de procesos dispersivos que modifican su energía y orientación angular. Estos tipos de señales, indicados en la Figura 2.11b, determinan la clase de información obtenida. En el caso de las imágenes TEM son los electrones transmitidos a través de la muestra los que permiten la proyección bidimensional del material [119].

El TEM puede resolver tanto como 0.2 nm lo que permite obtener imágenes que muestran como están arreglados los átomos en un material. Aunque la preparación de la muestra suele ser la parte más complicada del análisis no lo es tanto para los nanomateriales.

2.6.2.1.2 Microscopia electrónica de barrido (SEM)

La microscopia electrónica de barrido es una técnica extremadamente útil para analizar la morfología de las nanoestructuras y obtener información detallada sobre la composición química cercana a la superficie y su distribución [122].

Un microscopio electrónico de barrido típico, como el esquematizado en la Figura 2.12a, consta de un cañón electrónico consistente de un filamento de tungsteno que tiene por función generar y acelerar electrones. En el cañón los electrones son enfocados en un haz y acelerados con voltajes que varían usualmente ente 1 y 30 KeV. Dos o más lentes condensadoras son usadas para reducir la sección cruzada de la imagen generada en la fuente de emisión. La última de las lentes o apertura objetiva tiene por función graduar el diámetro de la sección iluminada de la muestra y por tanto tener una mayor nitidez. Los dispositivos de barrido se sitúan por encima de la apertura objetiva y permiten que el haz enfocado barra una sección cruzada de la superficie de la muestra. Posteriormente se localiza un detector de las señales emitidas por cada zona del material y la imagen es producida coleccionando los electrones emitidos en un tubo de rayos catódicos [119, 120].

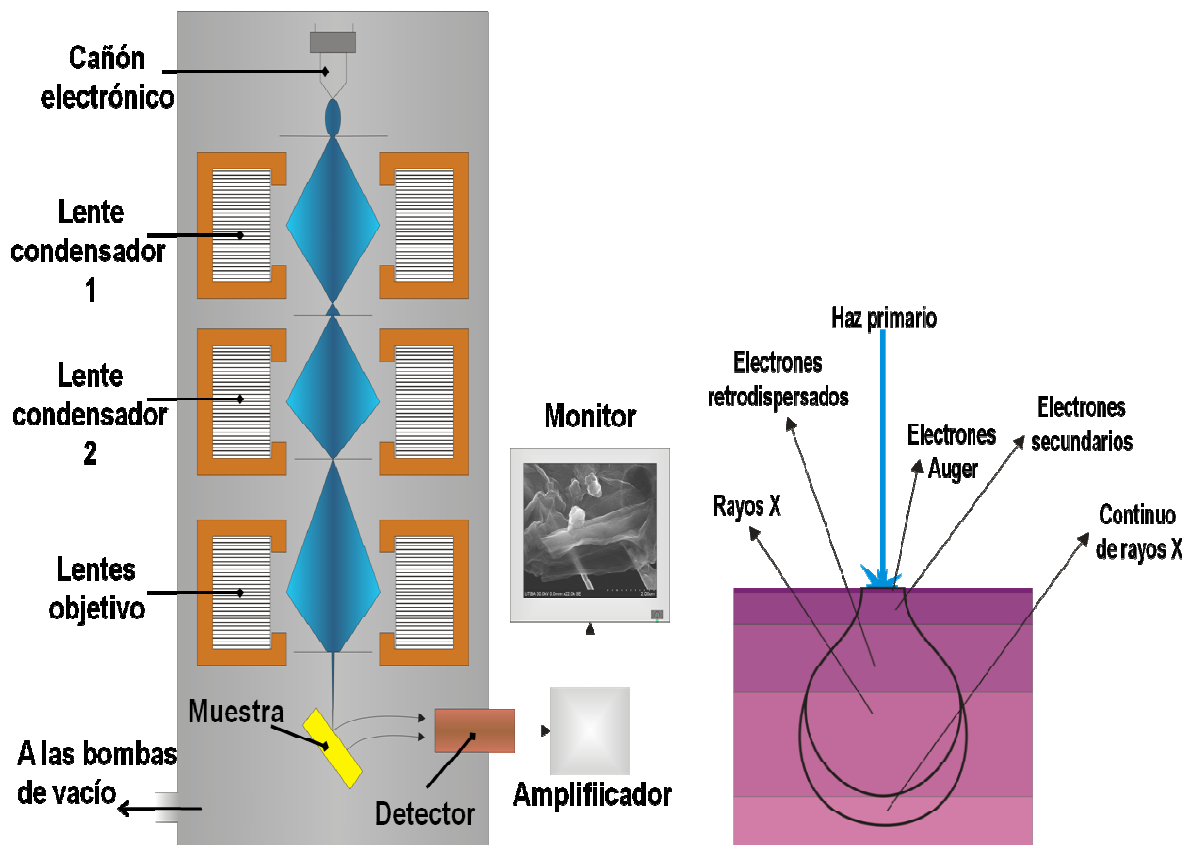


Figura 2.12 Diagrama esquemático de (a) las unidades que componen un microscopio electrónico de barrido y (b) de la interacción haz-muestra en un espécimen en grueso.

La Figura 2.12b esquematiza los tipos de señales producidas como resultado de la interacción del haz electrónico con la muestra. Esta interacción puede ser elástica, cuando la trayectoria de los electrones se modifica pero no se altera significativamente su energía; o inelástica, cuando existe una transferencia total o parcial de energía a los electrones de la muestra. Para el SEM las señales de interés pueden categorizarse en tres grupos: electrones secundarios, electrones retrodispersados y rayos X.

Los electrones secundarios son el resultado de colisiones inelásticas y son convencionalmente definidos como aquellos que poseen energías de menos de 50 eV. Estos electrones han ganado una pequeña cantidad de energía cinética y han escapado de una región con una profundidad de pocos nanómetros de la superficie de la muestra. Los electrones secundarios son atraídos por un colector que tiene una pequeña carga positiva y su uso principal es para el contraste topográfico. La señal de electrones secundarios tiene un poder de resolución por debajo del orden de 10 nm.

Los electrones retrodispersados resultan de colisiones elásticas y esencialmente poseen la misma energía que el haz incidente de electrones. Proviene de una profundidad mayor que aquella que origina a los electrones secundarios y se producen en menores cantidades que éstos. La probabilidad de obtener una señal retrodispersa aumenta con el incremento de elementos con mayor número atómico en la muestra. Los electrones retrodispersados proveen información topográfica y de composición aunque para la formación de imágenes de superficie tienen menor poder de resolución (25-100 nm). En cuanto a composición son útiles para contrastar regiones del espécimen que difieren ampliamente en número atómico [L,119].

La última de las señales producida por el material son los rayos X y ésta da origen a la técnica conocida como espectroscopia de rayos X de energía dispersiva (EDS) la cual será tratada en el apartado siguiente.

2.6.2.1.2.1 Espectroscopia de rayos X de energía dispersiva (EDS)

La espectroscopia de rayos X de energía dispersiva o microanálisis permite determinar cuáles elementos están presentes en el área seleccionada de la muestra. Como fue descrito con anterioridad, las señales de rayos X son producidas cuando un haz de electrones primario causa la eyección de un electrón de la capa más profunda de la muestra como se esquematiza en la Figura 2.13. La remoción del electrón provoca una ionización temporal en el átomo el

cual es estabilizado por el llenado de la vacancia con un electrón de las capas más externas del mismo. El electrón que ha llenado la vacancia proviene de un nivel más alto de energía y la diferencia de energía entre la capa interna y la externa de la cual proviene el electrón es liberada en forma de rayos X.

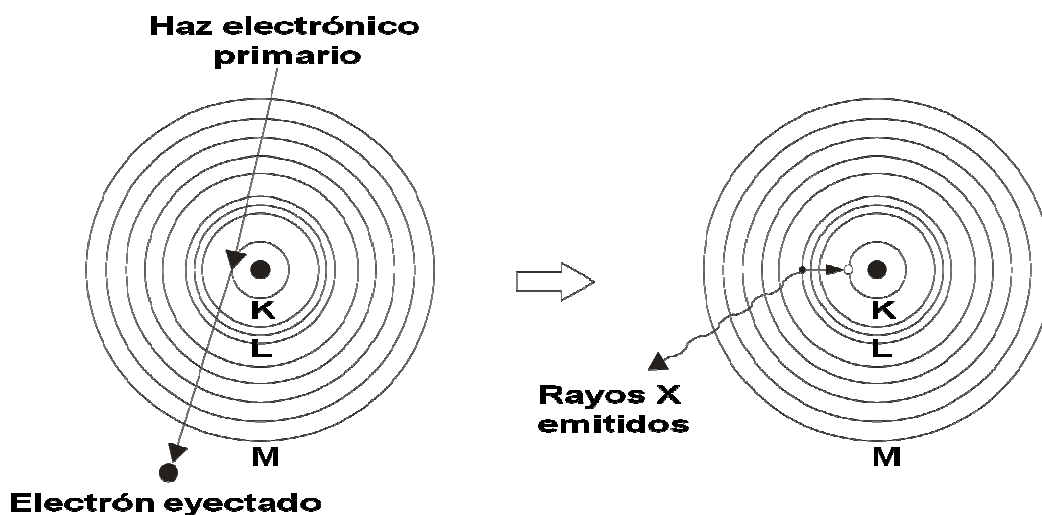


Figura 2.13 Generación de rayos X característicos debido a la interacción de un haz electrónico con electrones de capas profundas de átomos de la muestra.

La ocupación de las vacancias por electrones de capas más externas es un proceso que le es característico a cada tipo de elemento y es lo que permite identificarlos [121].

2.6.2.2 Microscopia de campo cercano

2.6.2.2.1 Microscopia de fuerza atómica (AFM)

La microscopia de fuerza atómica es una técnica instrumental que permite obtener imágenes tridimensionales de la topografía y los defectos estructurales de la superficie de una muestra a distancias próximas a la escala atómica.

Como puede apreciarse en la Figura 2.14 el AFM consiste de una micropalanca (cantilever) en cuyo extremo se localiza una punta que barre con enorme proximidad la superficie del espécimen y monitorea la magnitud de las fuerzas atómicas surgidas en relación con la distancia punta-muestra. Las fuerzas surgidas entre la punta y la superficie del material ocasionan que la sonda se desvíe y tal deflexión es detectada ópticamente usando un haz procedente de una fuente de radiación láser el cual es reflejado por el cantiliever hacia un detector sensible a la posición (PSD) o fotodiodo. La lectura de salida del fotodiodo controla

entonces el sistema de movimiento formado por un dispositivo tubular pizoeléctrico que desplaza la muestra en las direcciones x , y y z bajo la punta de tal manera que el campo de fuerzas entre la punta y la muestra permanezca constante. Finalmente, las tensiones aplicadas a los elementos pizoeléctricos son introducidos en un ordenador donde son procesados y convertidos en mapas por elevación para su posterior análisis e interpretación [L,Q,P].

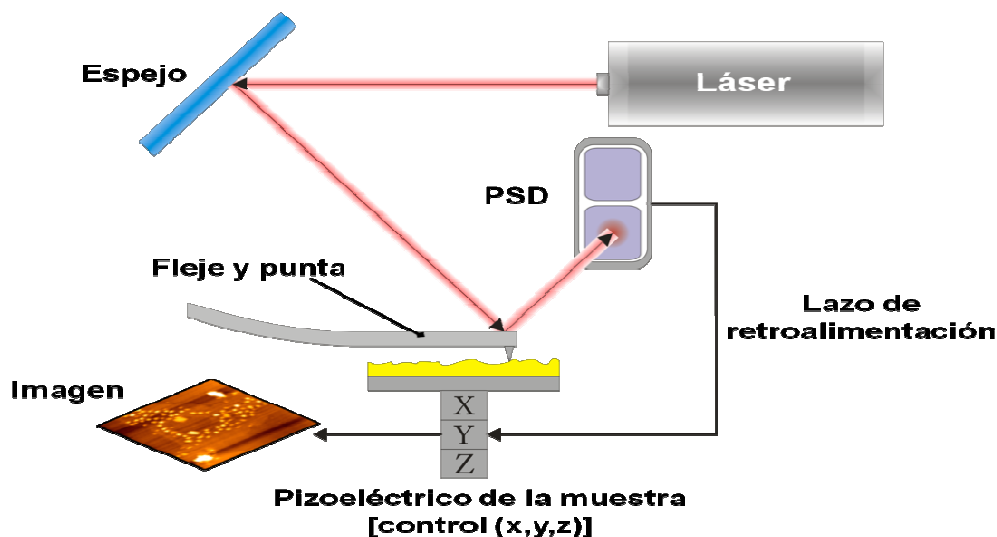


Figura 2.14 Representación esquemática de las unidades que componen un microscopio de fuerzas atómicas.

El microscopio de fuerza atómica puede configurarse para operar de dos modos, a saber, contacto y contacto intermitente (tapping). En la configuración del modo de contacto la punta se encuentra separada solo unos pocos Å de la superficie de la muestra objeto de estudio y las fuerzas generadas entre ellas son predominantemente repulsivas. En este régimen la punta toca al espécimen y puede dañar la superficie del mismo. En la configuración del modo de contacto intermitente o no contacto la punta se localiza a varias decenas de Å y las fuerzas que predominan son atractivas. Bajo este régimen el daño superficial puede ser evitado pues la punta solo entra en contacto con la muestra de manera periódica.

2.7 Análisis térmico

El análisis térmico comprende un conjunto de técnicas que permiten complementar los análisis espectroscópicos y microscópicos durante la evaluación y desarrollo de un nuevo material. Los métodos que a este rubro competen tienen por objeto medir la respuesta de un material cuando este es calentado o enfriado y establecer una correlación entre las propiedades fisicoquímicas de una muestra y la temperatura. Algunas de las técnicas más

importantes del análisis térmico son el barrido calorimétrico diferencial (DSC), el análisis termogravimétrico (TGA), el análisis térmico diferencial (DTA) y el análisis dinámico mecánico (DMA). En este trabajo de tesis nos enfocamos concretamente al DMA [123].

2.7.1 Análisis Dinámico Mecánico (DMA)

El Análisis Dinámico Mecánico es una técnica que involucra la aplicación de una tensión sinusoidal a una muestra para medir la deformación desarrollada por el material. A partir de esto se puede determinar una variedad de parámetros incluyendo módulos de almacenamiento y pérdida, viscosidad, temperaturas de transición, velocidades de gelificación y curado y morfología de polímeros [123,124].

El instrumento para realizar el análisis dinámico mecánico consiste, a grandes rasgos, de los componentes esquematizados en la Figura 2.15. El motor impulsor supe la fuerza de deformación sinusoidal aplicada al material. El eje de empuje transfiere la fuerza del motor a las abrazaderas, las cuales son livianas y resistentes a la vez, y tienen por función sostener la muestra. Todo este proceso se efectúa dentro del horno que constituye el sistema que permite el control de la temperatura [125].

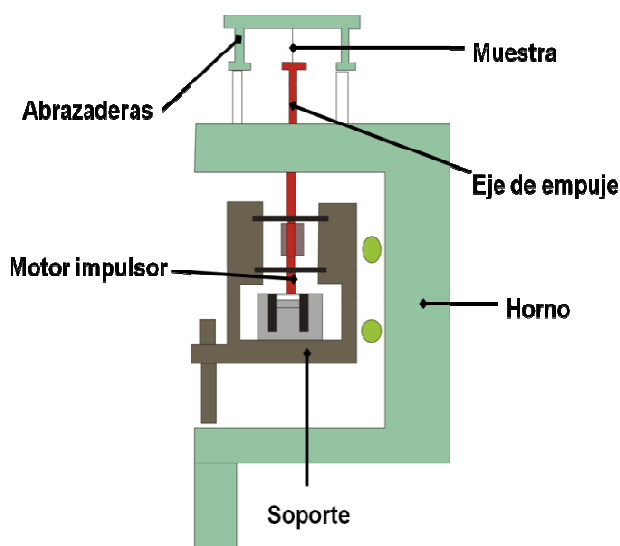


Figura 2.15 Representación esquemática de algunos de los elementos que componen el instrumento de análisis dinámico mecánico.

El modo de operación más común es el oscilatorio donde la muestra es expuesta a una tensión/deformación sinusoidal. Empero otros modos de deformación como la compresión, el plegado en tres puntos o el plegado de “cantiléver” o viga voladiza son posibles.

CAPÍTULO 3

Análisis y discusión de resultados

El capítulo que ahora nos ocupa presenta el análisis y discusión de los resultados experimentales de este trabajo de tesis los cuales serán expuestos en una secuencia de cuatro etapas.

- La primera etapa consiste en la preparación de grafito oxidado el cual es caracterizado mediante EDS, DRX y HRSEM. Este derivado grafitico es el material de partida para la preparación de suspensiones de hojas de óxido de grafeno.
- La etapa segunda estriba en la obtención de hojas de óxido de grafeno las cuales son caracterizadas mediante espectroscopia infrarroja y espectroscopia Raman así como con las microscopias TEM, HRSEM y AFM. Las hojas de óxido de grafeno serán utilizadas como un tipo de refuerzo en los nanocompositos de la última sección.
- La tercera etapa se basa en la síntesis del injerto de hojas de óxido de grafeno/queratina realizado bajo dos condiciones de reacción. El material resultante es caracterizado con espectroscopia infrarroja y espectroscopia Raman así como con las microscopias TEM, HRTEM y AFM. El análisis elemental también fue realizado. En esta misma etapa se observó el comportamiento dispersivo de las hojas de óxido de grafeno y de las hojas de óxido de grafeno injertadas con queratina en un par de solventes con polaridad opuesta. La cuantificación de la proteína injertada en las hojas de óxido de grafeno fue verificada. El material injertado bajo ambas condiciones de reacción es utilizado como refuerzo en la síntesis ulterior de nanocompositos.
- Finalmente, se sintetizaron los nanocompositos carboximetil celulosa/almidón, quitosano/almidón y quitosano/almidón/queratina reforzados con grafeno oxidado y grafeno oxidado injertado con queratina. La caracterización estructural de las películas nanoreforzadas se efectuó mediante espectroscopia infrarroja y Raman. La morfología fue observada a través de microscopia electrónica de barrido y el carácter viscoelástico de las películas se determinó mediante Análisis Dinámico Mecánico.

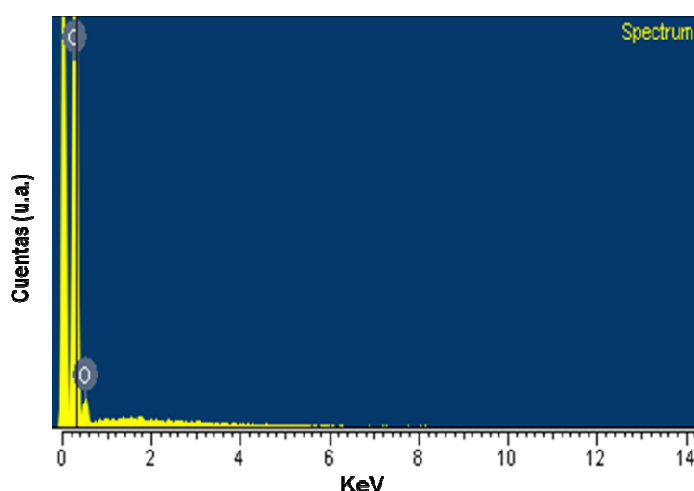
3.1 Grafito oxidado

El grafito oxidado es obtenido tratando el grafito en polvo con una mezcla, en esencia, de ácido sulfúrico concentrado, permanganato de potasio y agua destilada. La efectividad del proceso de oxidación fue evaluada mediante la determinación de la relación carbono/oxígeno a través del análisis elemental, el patrón de difracción de rayos X y la observación de la morfología del material resultante.

3.1.1 Espectroscopia de dispersión de energía (EDS)

El microanálisis fue obtenido en un equipo de espectroscopia de emisión de energía (EDS) Oxford Inca X-Sight con un detector tipo wafer de Silicio dopado con litio el cual se encuentra integrado en un equipo de microscopia de barrido electrónico JEOL JSM-6060 LV. El análisis se efectuó en muestras comprimidas en forma de pastilla y por duplicado.

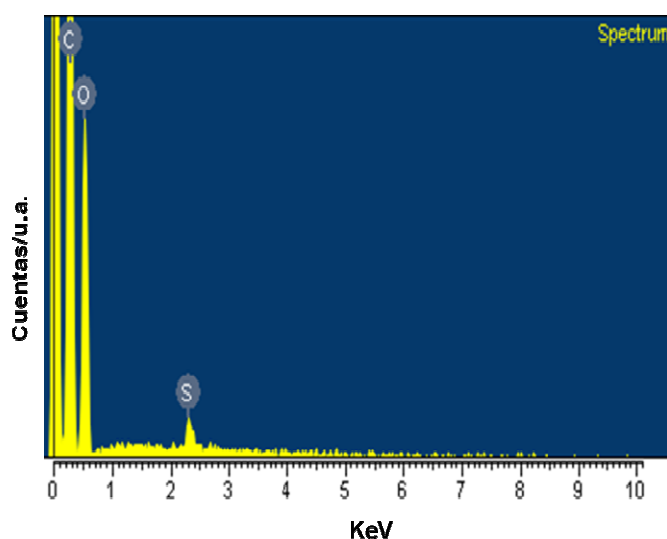
En la Figura 3.1 se presenta el espectro de dispersión de energía correspondiente al grafito así como su composición. Los elementos que lo conforman se reportan en porcentaje en peso y en porcentaje atómico. Como cabría esperar, el carbono se hace presente, el cual es el elemento base de la estructura gráfica y se reporta con un porcentaje en peso de 95.78. El oxígeno, aunque en una proporción bastante baja respecto al carbono, se presenta, probablemente, como traza de alguna contaminación producto de la exposición a las condiciones ambientales.



Elemento	% en peso	% atómico
C	95.78	96.79
O	4.22	3.21
Total	100	100

Figura 3.1 Espectro de dispersión de energía del grafito (izquierda) y su análisis elemental mostrando la composición en porcentaje en peso y atómico (derecha).

Tras el proceso oxidativo el análisis elemental del producto muestra importantes cambios respecto al grafito prístino (Figura 3.2). El análisis elemental del grafito oxidado indica que el carbono se presenta con un porcentaje en peso de 60.45 y el oxígeno de 38.58. El elemento azufre aparece como producto residual proveniente del ácido sulfúrico concentrado utilizado en la reacción de oxidación. Los porcentajes en peso de carbono y oxígeno por nosotros obtenidos se encuentran muy cercanos con lo reportado previamente por Gilje, S. y colaboradores [126] donde se indica que el grafito se encuentra completamente oxidado cuando presenta un porcentaje en peso de carbono de 59.25 y de oxígeno de 39.5. Estos autores indican, a su vez, que un rasgo fundamental es la proporción atómica C/O donde un valor de 2 permite considerar que el grafito ha sido completamente convertido en su derivado oxidado. Empero, proporciones atómicas con márgenes tan amplios que abarcan valores de 1.3 a 2.5 son aceptados como señal de oxidación. El valor que nosotros obtenemos de la proporción atómica C/O es 2.



Elemento	% en peso	% atómico
C	60.45	67.33
O	38.58	32.27
S	0.97	0.40
Total	100	100

Figura 3.2 Espectro de dispersión de energía del grafito oxidado y su análisis elemental mostrando su composición en porcentaje en peso y atómico.

Con base en estos datos nuestro material parece estar altamente oxidado, no obstante, en el apartado siguiente presentamos los resultados del análisis por difracción de rayos X que nos permite corroborarlo.

3.1.2 Difracción de rayos X (DRX)

La difracción de rayos X es una técnica de gran importancia para la caracterización e identificación de materiales que provee información sobre la estructura y arreglo atómico de un espécimen. Proporciona, además, detalles finos sobre la presencia de imperfecciones o defectos, tamaño de partícula y espaciado interatómico.

Cuando un haz de rayos X incide sobre una muestra el arreglo regular de los átomos en las capas cristalinas provoca su dispersión de acuerdo a la ecuación de Bragg:

$$\lambda = 2d_{h,k,l} \sin \theta \quad (3.1)$$

Esta ecuación establece la relación entre la longitud de onda del haz incidente de rayos X y las posiciones angulares de los haces difractados y las distancias entre los planos cristalinos.

La técnica de caracterización por difracción de rayos X es no destructiva y requiere una preparación mínima de la muestra. Existen varios métodos para efectuar este análisis, sin embargo, nos enfocaremos en la técnica de polvos por ser la de uso más común. En esta técnica se utiliza un espécimen en polvo con una distribución azarosa de cristales de tal manera que se asegure que alguna de las partículas se encontrará en la orientación correcta para difractar el haz de rayos X incidente y, por tanto, satisfacer las condiciones impuestas por la ley de Bragg [127,128].

En nuestro trabajo la difracción de rayos X se realizó por la técnica de polvos y el patrón de difracción fue obtenido en un equipo Rigaku modelo miniflex utilizando una radiación de Cu K α con longitud de onda $\lambda = 1.5406 \text{ \AA}$.

El grafito consiste de una serie de láminas de grafeno apiladas donde cada lámina está conformada por un átomo de carbono que se une a otros tres para formar una serie de hexágonos continuos. El enlace entre los átomos de carbono es de tipo covalente y la distancia que los separa es de 1.421 \AA . El apilamiento o unión de las láminas en el grafito se mantiene mediante enlaces de tipo van der Waals los cuales son mucho más débiles que los enlaces covalentes y provocan que la separación entre los planos sea de más del doble $-3.35 \text{ \AA}-$ de la distancia que une los átomos de carbono localizados en el plano de la hoja.

La Figura 3.3 muestra el patrón de difracción de rayos X del grafito y en él se observa un pico intenso con un ángulo de difracción 2θ de 26.5 grados el cual nos indica que existe una separación entre los planos de 3.36 Å característica de este material.

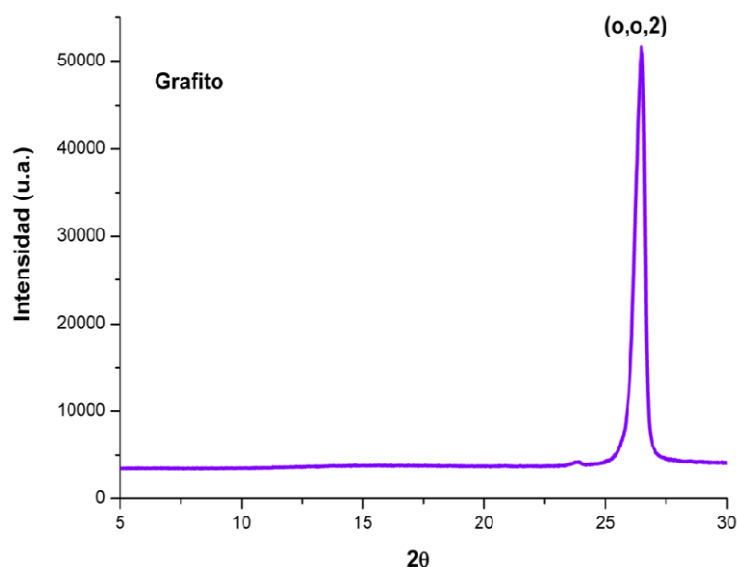


Figura 3.3 Patrón de difracción de rayos X del grafito en el que se aprecia el pico característico de este material con un ángulo de difracción 2θ de 26.5 grados.

Tras la reacción de oxidación se obtiene un material con una estructura laminar en la que cada hoja presenta una gran cantidad de grupos funcionales que contienen oxígeno. Dichas funcionalidades se ubican sobre los planos basales y en la frontera de las hojas lo que provoca que la distancia entre las capas aumente considerablemente.

Como puede ser apreciado en la Figura 3.4 el patrón de DRX exhibe un pico con un ángulo de difracción 2θ de 11.94 grados lo que nos permite obtener, mediante la ecuación de Bragg, una separación entre capas de 7.40 Å que representa un aumento de poco más del doble de la distancia característica que separa las láminas de grafeno en el grafito. Aunado a esto, puede observarse que el pico intenso a los 26.5 grados característico del grafito está completamente ausente.

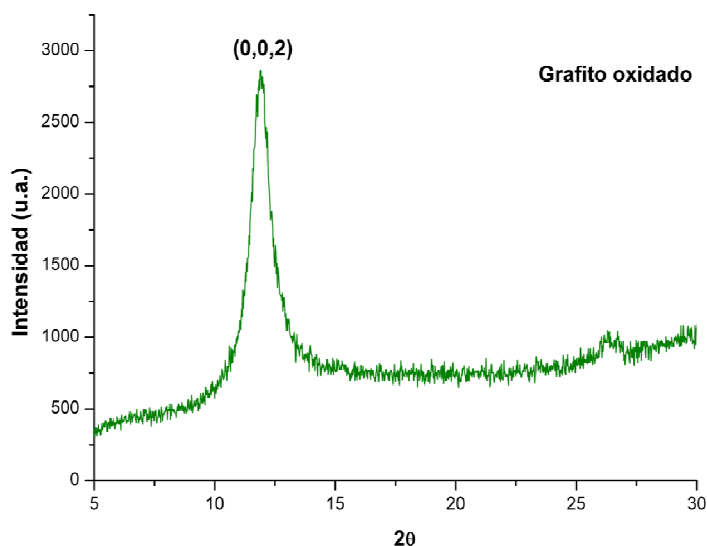


Figura 3.4 Patrón de difracción de rayos X de grafito oxidado en el que se observa un pico con ángulo de difracción 2θ de 11.94 grados indicando que el material está altamente oxidado.

Los resultados proporcionados por el análisis de DRX están en concordancia con los reportados previamente en la literatura y son una clara indicación de una completa transformación del grafito en grafito oxidado [126,129].

3.1.3 Microscopia electrónica de barrido de alta resolución (HRSEM)

La microscopia electrónica de barrido de alta resolución, típicamente abreviada HRSEM por sus siglas en inglés, es uno de los modos en el que puede operar un microscopio electrónico de barrido (SEM) y que permite obtener detalles finos de un espécimen. En el caso del SEM el poder de resolución está en función de la longitud de onda de los electrones y de la apertura o tamaño del haz. La mayoría del los SEM tienen un voltaje máximo de 30 kV el cual es el voltaje usado para obtener la disección de los detalles finos de la muestra [128,129,130].

Las imágenes SEM fueron obtenidas en un microscopio electrónico Hitachi S-5000 operado a 30 kV. Para la preparación de las muestras el óxido de grafito se sometió a un proceso de ultrasonido en agua destilada durante 15 minutos y enseguida se depositó, mediante goteo, en una rejilla para su ulterior análisis.

La Figura 3.5, en su primer inciso, muestra un cúmulo de hojas de óxido de grafito cuya morfología luce densa y se presenta arrugada y con dobleces. En el inciso b es posible apreciar varias hojas de óxido de grafito dobladas sobre sí mismas y arrugadas.

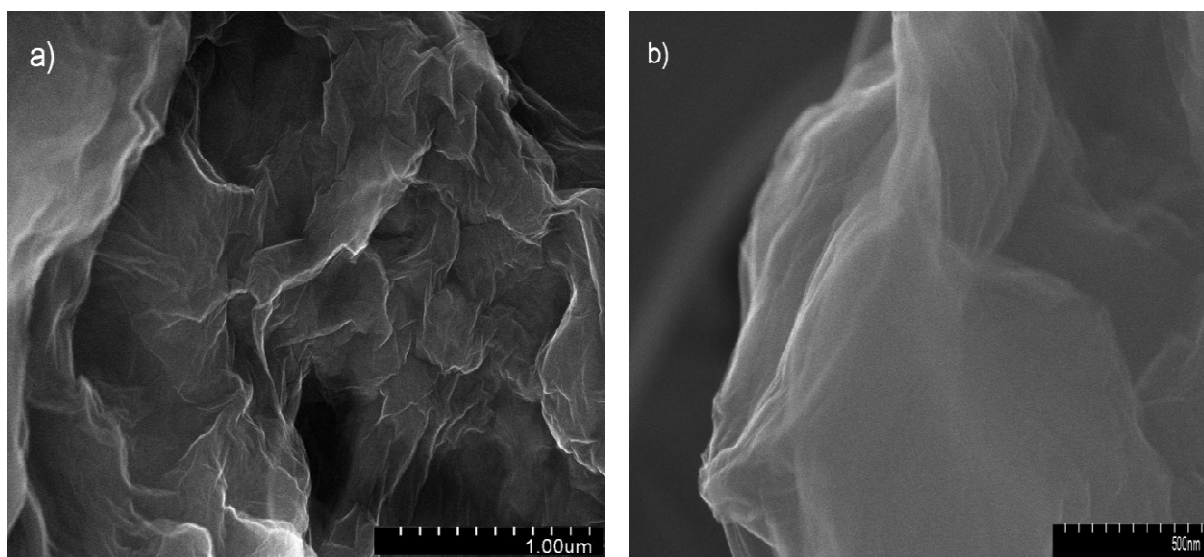


Figura 3.5 Imágenes obtenidas por HRSEM de óxido de grafito a) Cúmulo de hojas de óxido de grafito con morfología densa y arrugada. b) Imagen de varias hojas arrugadas y dobladas sobre sí mismas.

Con los resultados proporcionados por las técnicas de caracterización en este apartado presentados podemos concluir que nuestro grafito está altamente oxidado lo cual es un prerequisite indispensable para obtener hojas de óxido de grafeno exfoliadas a través del tratamiento ultrasónico.

3.2 Hojas de óxido de grafeno

El óxido de grafito es un material que posee una estructura laminar cuyos planos consisten de hojas de óxido de grafeno que se encuentran ampliamente adornadas con funcionalidades ricas en oxígeno. La presencia de estos grupos funcionales modifica el carácter de las hojas volviéndolas altamente hidrofílicas lo que permite que las moléculas de agua puedan fácilmente introducirse en las galerías intercapa. El aumento en la distancia entre las láminas y su naturaleza hidrofílica permite que éstas sean fácilmente exfoliadas en medio acuoso mediante la aplicación de energía externa tal como el tratamiento ultrasónico. Las dispersiones acuosas así obtenidas están constituidas, con base en los resultados de las técnicas de caracterización, por hojas de óxido de grafeno.

3.2.1 Espectroscopia Infrarroja (FT-IR)

La espectroscopia infrarroja fue utilizada para obtener información sobre la estructura molecular y determinar la presencia, a través de su espectro, de diversos grupos funcionales

en las hojas de óxido de grafeno. El espectro infrarrojo fue obtenido en un espectrofotómetro Bruker, modelo alfa-p, utilizando un láser con una longitud de onda de 1064 nm. El polvo de óxido de grafeno fue suspendido en agua destilada y sometido a tratamiento ultrasónico durante 3 horas. Una vez filtrado y seco se incorporó a una ventana de KBr.

En la Figura 3.6 el espectro infrarrojo de las hojas de óxido de grafeno ilustra la presencia de una banda ancha, con un número de onda de 3382 cm^{-1} , que corresponde a las vibraciones de estiramiento de los grupos hidroxilo (-OH) distribuidos sobre los planos basales de las hojas. El pico que aparece a los 1700 cm^{-1} corresponde a las vibraciones de estiramiento de grupos carbonilo/carboxilo (C=O) de las funcionalidades carboxílicas (COOH) presumiblemente ubicadas en las fronteras de las hojas. El par de picos contiguos ubicados en 1624 cm^{-1} y 1587 cm^{-1} hacen referencia a los dominios aromáticos, es decir, a las regiones gráficas de las láminas que permanecen sin oxidar (C=C). La banda aguda a 1402 cm^{-1} puede atribuirse a la vibración de estiramiento C-O del grupo carboxilo. Finalmente, el pico ubicado en 1228 cm^{-1} es asignado a la vibración de estiramiento de la funcionalidad C-O de los grupos epóxidos (C-O-C) que se presume se encuentran distribuidos sobre la superficie de los planos.

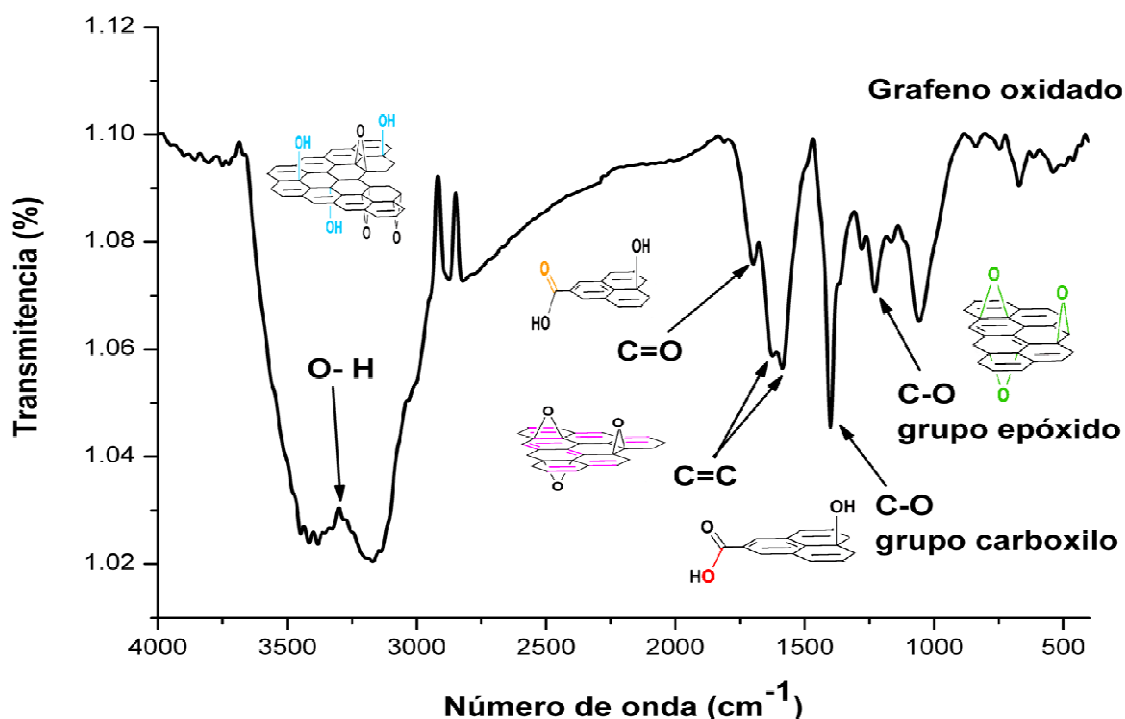


Figura 3.6 Espectro Infrarrojo de hojas de óxido de grafeno donde se ilustran los diversos grupos funcionales en segmentos representativos de la lámina de óxido de grafeno.

Los grupos funcionales revelados por el análisis de espectroscopia infrarroja de nuestro material concuerdan con los reportados previamente por Ruoff y colaboradores [131,132].

3.2.2 Espectroscopia Raman

El estudio y la caracterización de los diversos miembros de la familia del carbono se ha valido de una de las técnicas más poderosas para ese fin: la espectroscopia Raman. El uso de esta técnica se ha hecho extensivo para elucidar las propiedades del grafeno. La forma, posición e intensidad de las bandas en el espectro permite identificarle y, simultáneamente, monitorear los cambios estructurales que ocurren durante su procesamiento.

El espectro fue obtenido en un micro espectrómetro Raman modelo Dilor utilizando un láser de Argón de 514.5 nm y una potencia de 20 mW. El tiempo de integración fue de 15s a 20 °C y bajo una humedad relativa de 31%.

En la Figura 3.7 se comparan los espectros Raman del grafito, grafito oxidado y grafeno oxidado. Como puede ser apreciado cada espectro muestra tres picos principales. En el grafito la banda localizada a aproximadamente 1353 cm^{-1} , denominada banda D, es asociada al modo de respiración de los anillos aromáticos con enlaces libres en las terminaciones de los planos [9]. La banda G, localizada a 1575 cm^{-1} , se origina de la vibración en el plano de los átomos de carbono con hibridación sp^2 y, finalmente, el pico localizado a $\sim 2700\text{ cm}^{-1}$ es asociado a un sobre tono de la banda D [10]. La proporción de intensidades de las bandas D y G es empleada para determinar el grado de desorden de la estructura de los materiales de carbono. La banda D es atribuida a los extremos, a los defectos y al carbón desordenado; la banda G corresponde a los átomos de carbono sp^2 con una estructura bien ordenada. En el grafito es posible observar una débil banda D y un pico G fuerte y bien definido que indica que el grafito posee una estructura en capas apiladas.

Después del tratamiento de oxidación el pico G es ensanchado y desplazado a un número de onda mayor (1586 cm^{-1}) mientras que la intensidad de la banda D incrementa substancialmente. Este incremento en la intensidad de la banda D puede ser atribuida a la disminución significativa en el tamaño de los dominios sp^2 en el plano asociada a la presencia de grupos funcionales en el esqueleto de carbono de las hojas.

En este mismo orden de ideas en el espectro Raman de óxido de grafeno la banda G se ensancha y es desplazada a un número de frecuencia mayor (1598 cm^{-1}) en comparación con

las frecuencias observadas para el grafito y el grafito oxidado. Este fenómeno puede ser atribuido a la presencia de dobles enlaces aislados sobre la hoja de grafeno los cuales resuenan a frecuencias más elevadas [133-135]. La banda 2D, el sobre tono de la banda D, es muy sensible al orden de apilamiento de las hojas de grafeno a lo largo del eje *c* y la forma, el ancho y la posición que presenta permite determinar el número de hojas. En el grafito oxidado y en el grafeno oxidado la banda 2D es ensanchada y desplazada a una frecuencia mayor (2792 cm^{-1} y 2832 cm^{-1} respectivamente) comparada con el grafito lo cual sugiere la presencia de defectos en el material y una morfología aglomerada [136-138].

Como mencionamos con anterioridad, la proporción de intensidades de las bandas D y G (I_D/I_G) es la proporción de carbono amorfo o desordenado (sp^3) respecto al carbono grafitico (sp^2). Así pues, el grafito presenta una relación I_D/I_G de 0.30; la proporción I_D/I_G del grafito oxidado es 0.85 y para el grafeno oxidado D:G es 0.93. Este aumento en la proporción de las intensidades D/G sugiere una reducción en el tamaño promedio de las regiones con enlaces de tipo sp^2 . El proceso de oxidación genera algún grado de carácter amorfo sobre las hojas así como fragmentación. Los extremos de los fragmentos así generados actúan como defectos produciendo un aumento en la intensidad de la banda D. Estos resultados son consistentes con la literatura [135,136].

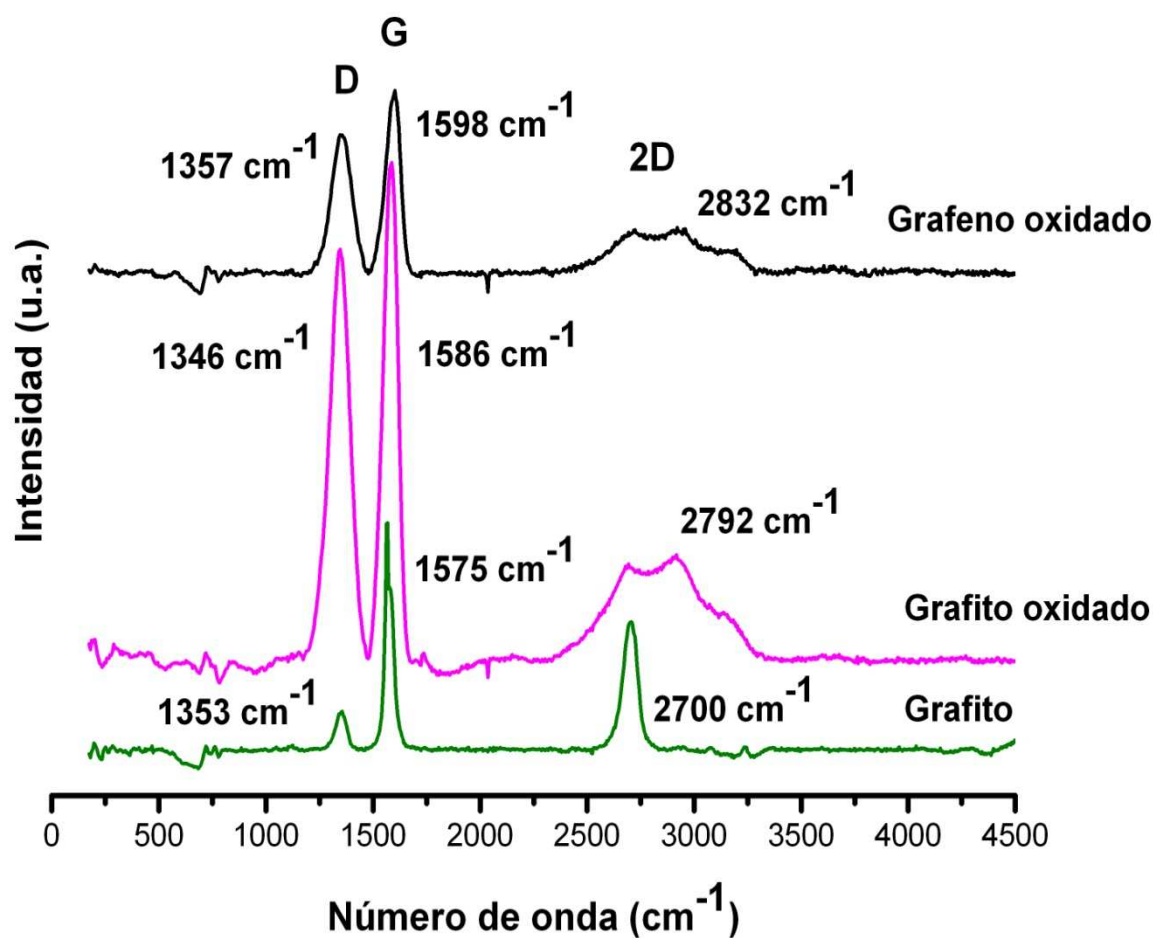


Figura 3.7 Espectros Raman de grafito, grafito oxidado y grafeno oxidado.

3.2.3 Microscopia de fuerza atómica (AFM)

La microscopia de fuerza atómica nos permitió investigar el nivel de exfoliación de las hojas de óxido de grafeno. Para ello, una suspensión acuosa de óxido de grafeno fue sometida a tratamiento ultrasónico durante 3 horas y posteriormente depositada mediante goteo en un sustrato de mica. Las imágenes fueron obtenidas en un instrumento digital CPII operado en modo no contacto con una frecuencia de 200 kHz y una velocidad de barrido de 0.5 Hz.

La Figura 3.8 revela la presencia de hojas de óxido de grafeno aisladas que presentan una morfología irregular. El diagrama de perfil de alturas de la imagen de AFM mostró que el grosor promedio de las hojas de óxido de grafeno fue cerca de 0.6 nm. Este valor es similar al que ha sido reportado en estudios previos para las hojas de óxido de grafeno “secas” mientras que las hidratadas reportan valores típicos de 1.0 a 1.3 nm [139]. El grosor de estas hojas es significativamente más alto que el reportado para las hojas sencillas de grafeno prístino

(~0.34 nm) atribuido a la presencia de grupos funcionales oxigenados y a la rugosidad surgida por los defectos estructurales-enlaces sp^3 - generados durante el proceso de oxidación [140].

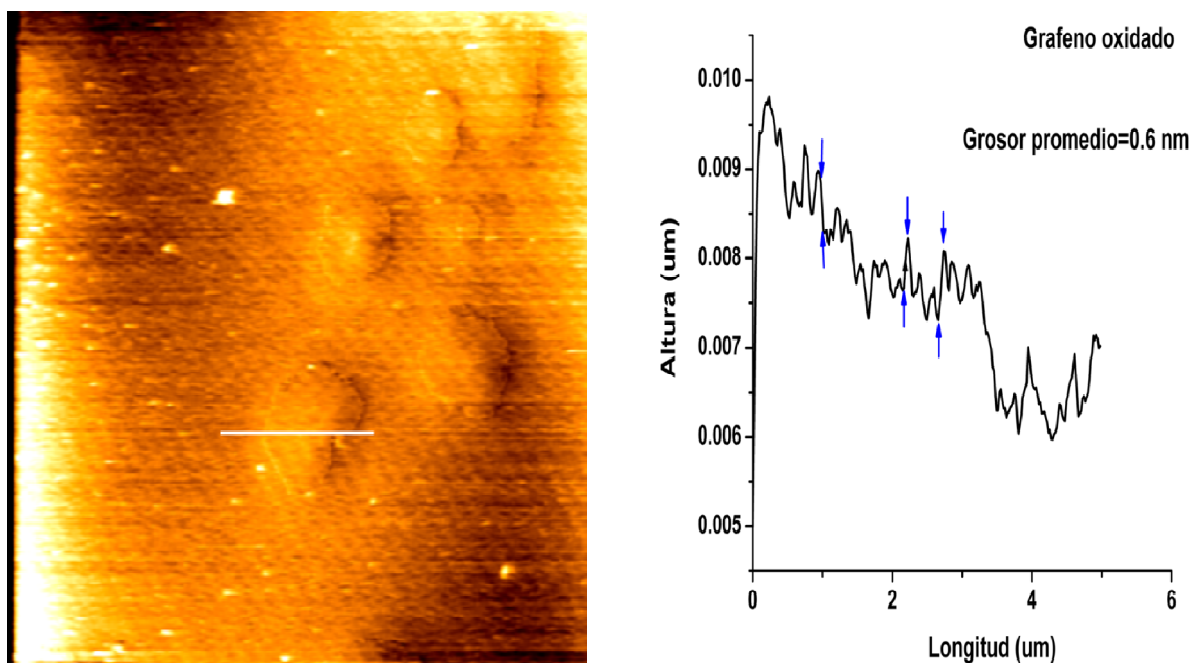


Figura 3.8 Vista topográfica obtenida mediante AFM de hojas de óxido de grafeno depositadas sobre un sustrato de mica (izquierda) y el perfil de altura (derecha).

3.2.4 Microscopia de transmisión electrónica (TEM)

La caracterización morfológica de las hojas de óxido de grafeno fue realizada mediante microscopia electrónica de transmisión. La preparación de las muestras consistió en una suspensión de óxido de grafito en etanol la cual fue sometida a tratamiento ultrasónico durante 3 horas y posteriormente goteada sobre una rejilla de carbón. Posteriormente las muestras fueron observadas en un microscopio de transmisión electrónica JEOL modelo JEM-1010 operado a 80 kV.

La Figura 3.9 ilustra imágenes típicas de hojas de óxido de grafeno las cuales se muestran translúcidas, con algunas regiones arrugadas en su superficie y con dobleces en los extremos. Las hojas presentan dimensiones laterales en un rango de 1 a 2 μm . Imágenes semejantes han sido previamente reportadas [141]

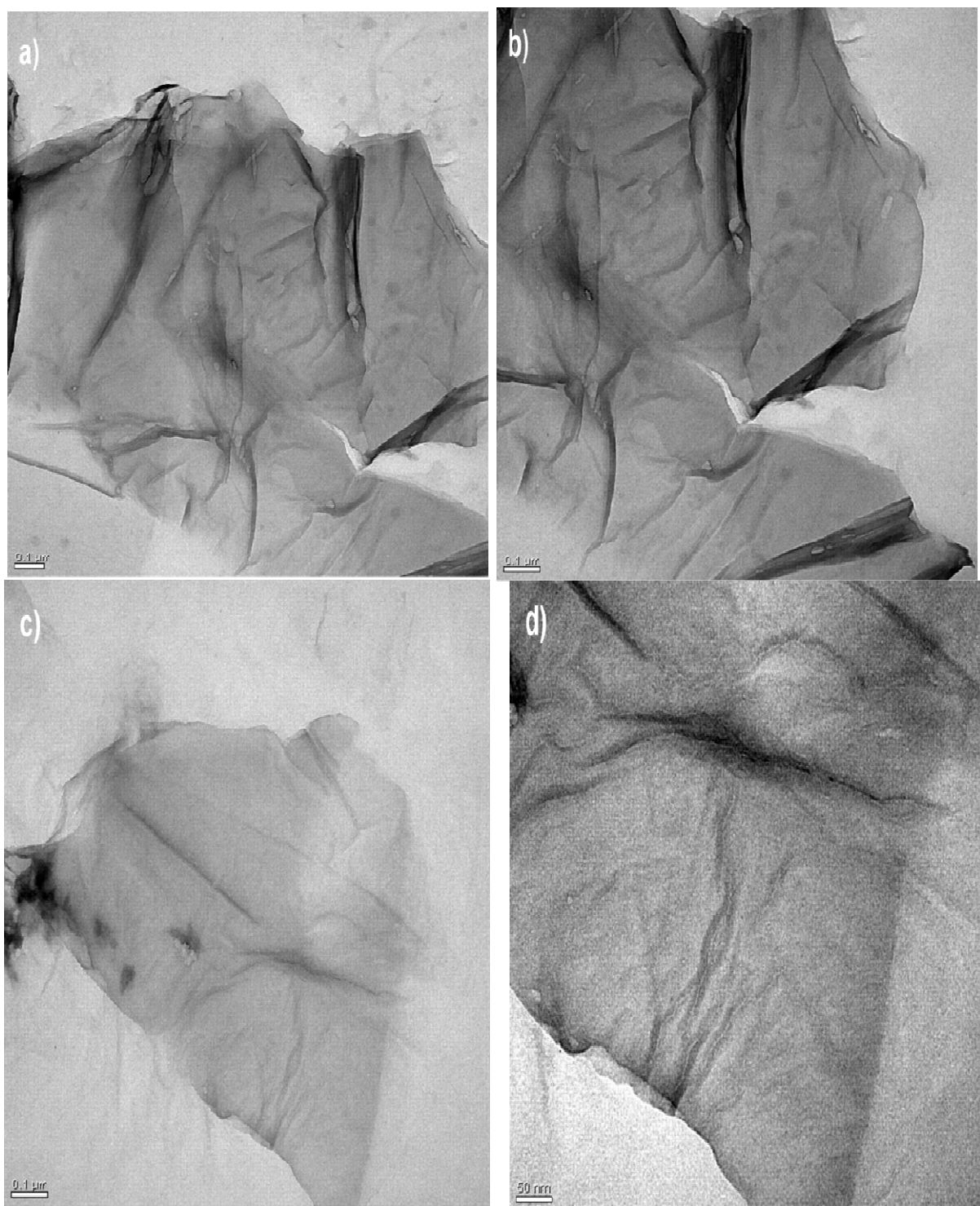


Figura 3.9 Imágenes TEM de hojas de óxido de grafeno. Micrografías a) y c) son hojas de óxido de grafeno y b) y d) sus respectivos acercamientos.

3.2.5 Microscopia de barrido electrónico (SEM)

La caracterización morfológica de las hojas de óxido de grafeno fue, a su vez, estudiada mediante microscopia de barrido electrónico. Como puede apreciarse en las imágenes que componen la Figura 3.10 las hojas de óxido de grafeno semejan sábanas con superficies suaves y con algunas regiones que presentan arrugas y dobleces. El tamaño promedio es de aproximadamente $1.5\ \mu\text{m}$ lo que coincide con lo encontrado en la microscopia electrónica de transmisión.

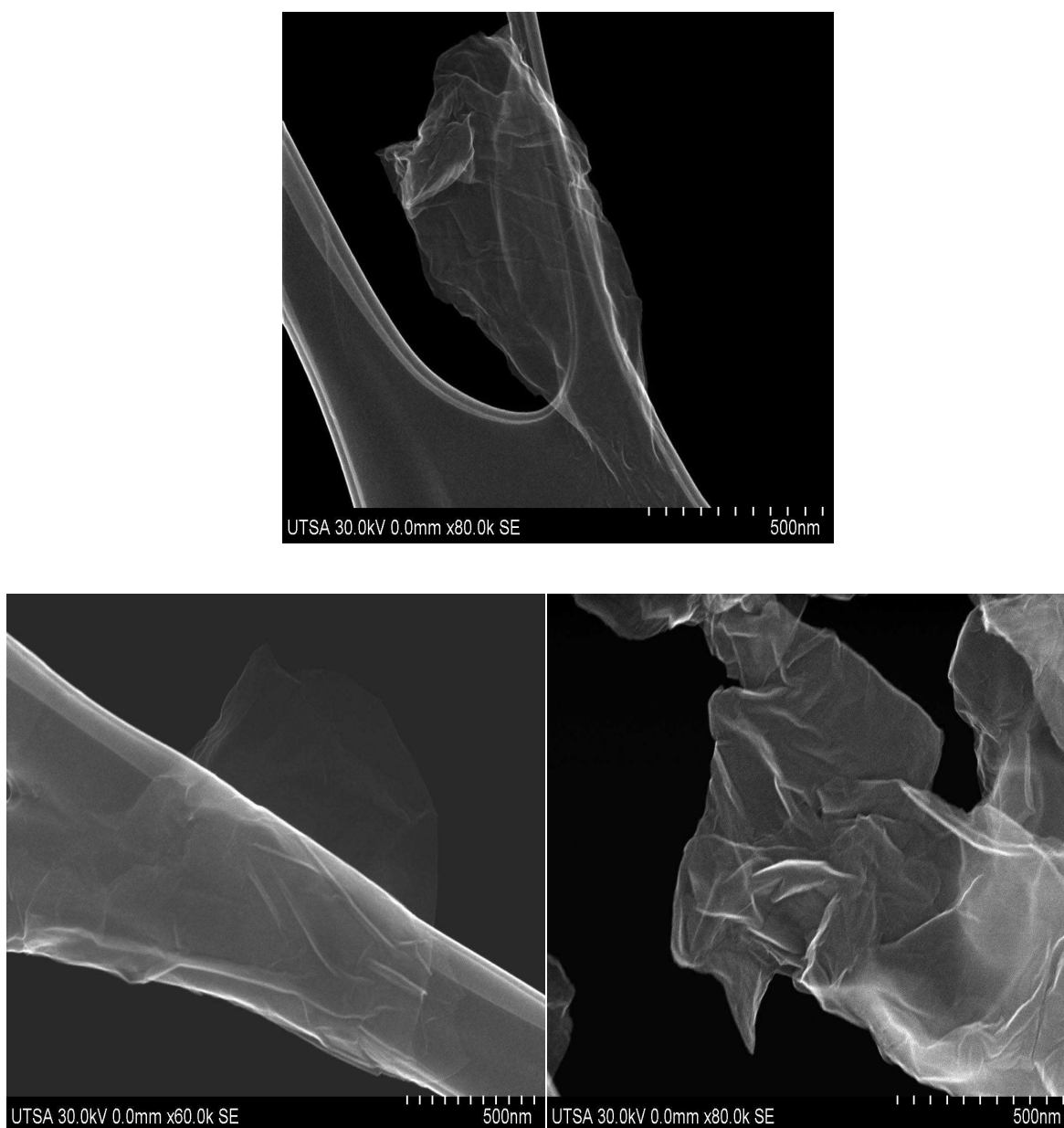


Figura 3.10 Micrografía SEM de hojas de óxido de grafeno

Así pues, este resultado demuestra, en paralelo con el resto de las caracterizaciones, la eficiencia del tratamiento de oxidación química del grafito para exfoliarlo en hojas de óxido de grafeno.

3.3 Hojas de óxido de grafeno injertadas covalentemente con queratina

La elevada área superficial proporcionada por la estructura bidimensional de las hojas de óxido de grafeno y, los abundantes grupos funcionales oxigenados que contiene, lo convierten en un candidato ideal para la incorporación de biomoléculas en su superficie. En este sentido, las cadenas de aminoácidos que constituyen a la queratina presentan una variedad de funcionalidades amino, carboxilos, tioles e hidroxilos que, bajo condiciones de oxidación-reducción, pueden unirse, mediante enlaces covalentes, a los grupos oxigenados del grafeno los cuales actúan como sitios de anclaje. Un bosquejo de este proceso puede ser apreciado en la Figura 3.11. Esta funcionalización permite generar estructuras con propiedades únicas y potenciales nuevas aplicaciones. La efectividad del proceso de injerto es analizada enseguida.

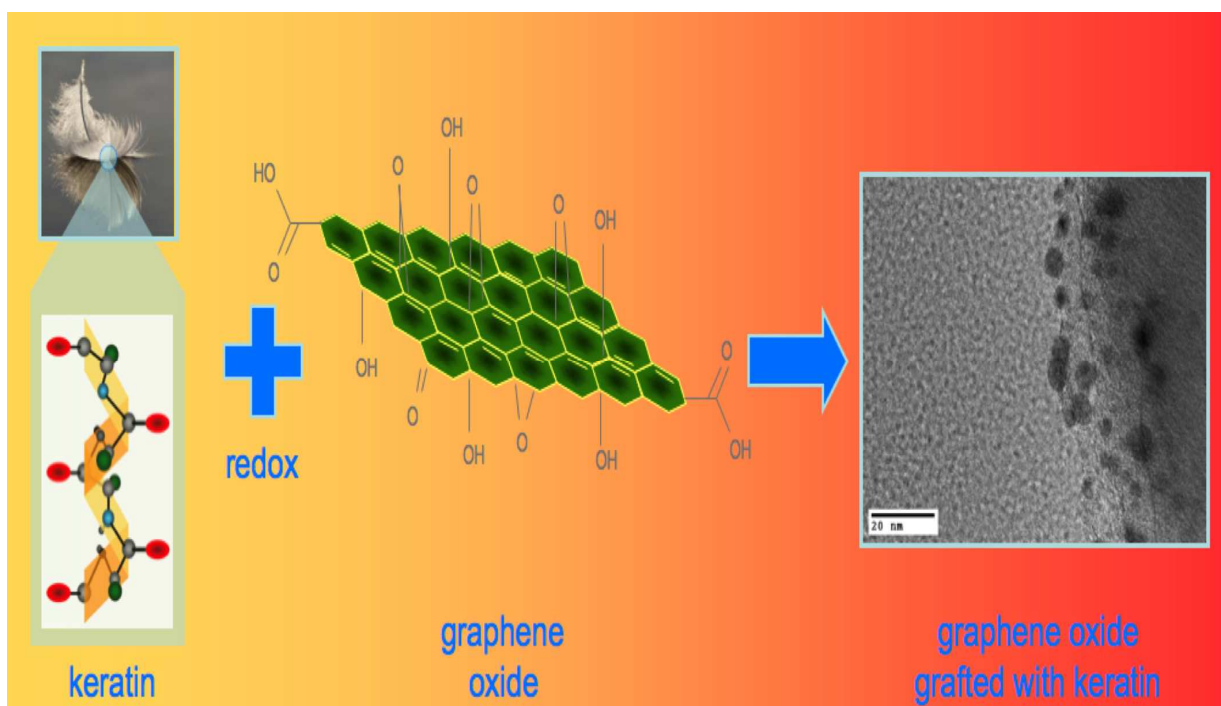


Figura 3.11 Representación esquemática del proceso de injerto de queratina en las hojas de óxido de grafeno.

3.3.1 Comportamiento dispersivo de las hojas de grafeno injertadas con queratina

Con la finalidad de conocer el comportamiento dispersivo de las hojas de grafeno modificadas con queratina, nosotros observamos su actuación en agua (solvente polar) y hexano (solvente no polar) y las comparamos con el comportamiento del grafito y grafeno oxidado. Las soluciones, con concentración de 0.2 mg/ml, fueron sujetas a un generoso ultrasonido. Como puede ser observado en la Figura 3.12, incisos a y b, el grafeno injertado con queratina bajo ambas condiciones de reacción (GOIQ1 y GOIQ2) presenta una tonalidad café más clara en comparación con el grafeno oxidado y forma suspensiones estables en agua, más no en hexano. El material de carbono modificado con la queratina forma puentes de hidrógeno con el solvente polar lo que permite mejorar el carácter dispersivo. Por otro lado, no es posible lograr una buena dispersión en el hexano debido a su naturaleza no polar. Como puede apreciarse en la Figura 3.12 c-d las suspensiones acuosas de grafeno oxidado y grafeno oxidado injertado con queratina forman un pequeño precipitado después de 24 horas el cual puede ser re-suspendido fácilmente.

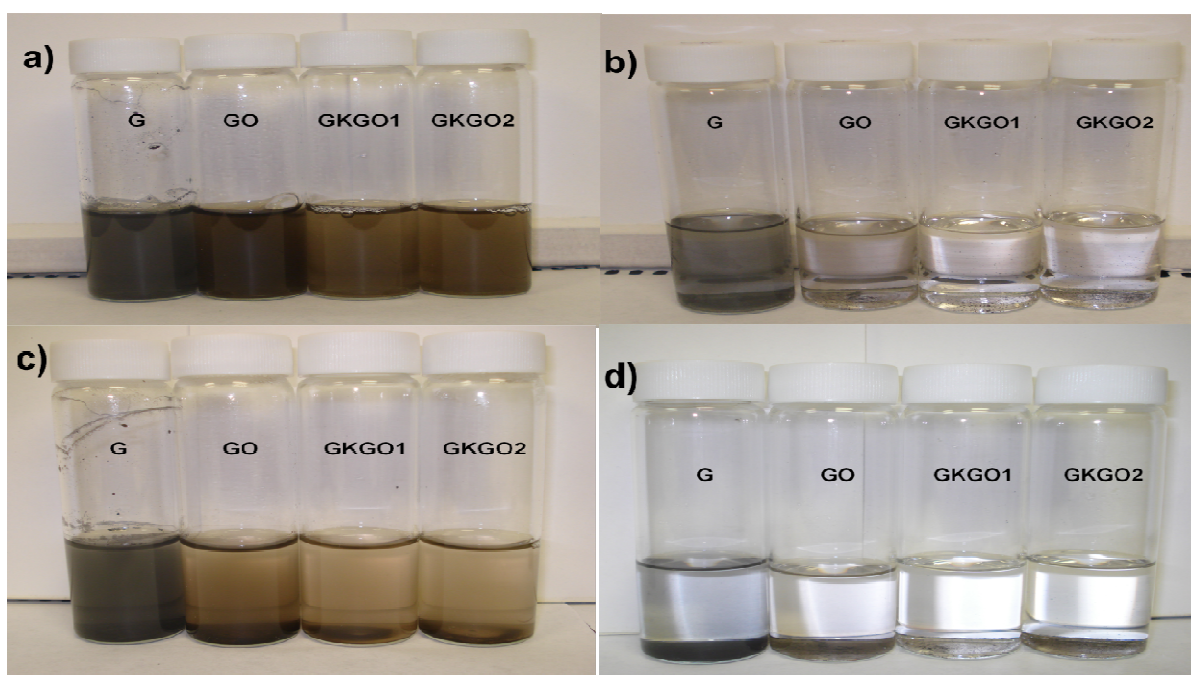


Figura 3.12 Materiales de carbono dispersados en agua y hexano (de izquierda a derecha) grafito (G), grafeno oxidado (GO), grafeno oxidado injertado con queratina condición 1 (GOIQ1) y condición 2 (GOIQ2). a) Dispersiones acuosas justo sonicadas; b) Dispersiones en hexano justo sonicadas; c) Dispersiones acuosas 24h después del baño ultrasónico; d) Dispersiones en hexano 24h después del baño ultrasónico.

La generación de suspensiones acuosas homogéneas de este material es de importancia fundamental para aumentar la capacidad de procesamiento y diversificar la posibilidad de aplicaciones. La efectividad del injerto es ulteriormente confirmada mediante espectroscopia FT-IR.

3.3.2 Espectroscopia Infrarroja (FT-IR)

En la Figura 3.13 se comparan los espectros infrarrojos del grafeno oxidado, la queratina y el grafeno oxidado injertado con queratina. Como fue previamente detallado en la sección 3.2, el espectro infrarrojo de las hojas de óxido de grafeno ilustra la presencia de funcionalidades como νOH (3382 cm^{-1}), $\nu\text{C=O}$ (1700 cm^{-1}), $\nu\text{C=C}$ ($1624\text{-}1587\text{ cm}^{-1}$), $\nu\text{C-O}$ del grupo carboxilo (1402 cm^{-1}), $\nu\text{C-O}$ de grupos epóxidos (1228 cm^{-1}) y vibraciones C-O de grupos alcóxidos (1059 cm^{-1}). El espectro de la queratina, por su parte, muestra una banda ancha a los 3417 cm^{-1} que corresponde a la vibración de estiramiento N-H de la amida secundaria. El pico angosto y bien definido localizado a 1648 cm^{-1} corresponde a la vibración de estiramiento del grupo carbonilo. La vibración a 1539 cm^{-1} está asociada al plegado en el plano del segmento N-H y la banda a 1234 cm^{-1} puede ser asignada a la vibración de estiramiento C-N.

Al analizar ambos espectros de grafeno injertado con queratina es posible apreciar cambios notables. Tomando como referencia el espectro de grafeno oxidado se observa que el par de señales asociadas con las vibraciones C=O y C=C han dado lugar a una única banda a 1645 cm^{-1} relacionada con la vibración de estiramiento C=O propia de la amida I de la queratina. Por otro lado, una nueva banda a 1532 cm^{-1} correspondiente a la deformación de la amida II de la queratina está presente. La banda a 1230 cm^{-1} está relacionada con la vibración de estiramiento del enlace C-N de la amida III. Finalmente, comparando el espectro de los injertos con el espectro del grafeno oxidado se observa una disminución significativa de la intensidad de los picos relacionados con la vibración C-O (1402 y 1228 cm^{-1}) lo que podría indicar que estas porciones son sensibles como sitios de injerto.

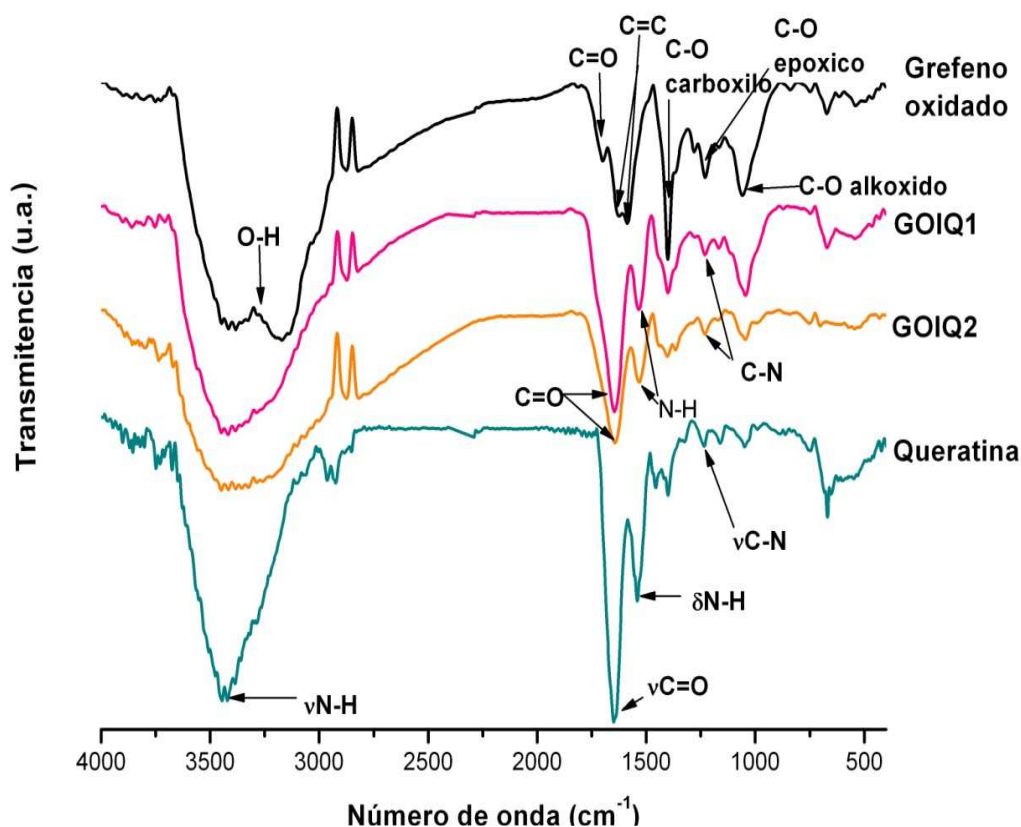


Figura 3.13 Espectro infrarrojo de grafeno oxidado, queratina y grafeno oxidado injertado con queratina.

3.3.3 Espectroscopia Raman

La espectroscopia Raman es una herramienta eficaz para el estudio de las características estructurales de los materiales basados en grafeno. La Figura 3.14 muestra los espectros Raman de grafeno oxidado y de las hojas de grafeno oxidado injertadas covalentemente con queratina. El espectro Raman del óxido de grafeno fue explicado detalladamente en la sección anterior, empero, para efectos de comparación, su espectro presenta una banda D a 1351 cm^{-1} ; una segundo pico a 1598 cm^{-1} denotado como banda G y el sobretono 2D a 2839 cm^{-1} . Cuando el grafeno oxidado es injertado con queratina, los espectros muestran un ligero corrimiento en la posición de las bandas D y G y una variación significativa en la intensidad de la banda 2D. En el injerto realizado bajo la condición 1 (GOIQ1) la banda D es desplazada a una frecuencia de 1353 cm^{-1} y la banda G se localiza a 1594 cm^{-1} . Es posible apreciar, incluso, un incremento significativo en la proporción de intensidades D/G con respecto al óxido de grafeno lo cual indica un incremento en el desorden de la muestra que puede ser interpretado como una disminución en los enlaces sp^2 [142]. En el injerto realizado bajo la condición 2 (GOIQ2) el pico a 1347 cm^{-1} corresponde a la banda D y la banda G se localiza a

una frecuencia de 1586 cm^{-1} . La proporción de intensidades D/G en este injerto es menor comparada con la misma relación en el óxido de grafeno. Cambios evidentes son apreciados en la banda 2D la cual es muy susceptible a cambios producidos en el grafeno relacionados con el número de hojas o su apilamiento.

El corrimiento en la posición de las bandas, la variación en la intensidad de las mismas y el ensanchamiento de los picos están relacionados con los cambios producidos en el óxido de grafeno debido al injerto de la queratina. Estos cambios pueden ser interpretados como evidencia de injerto.

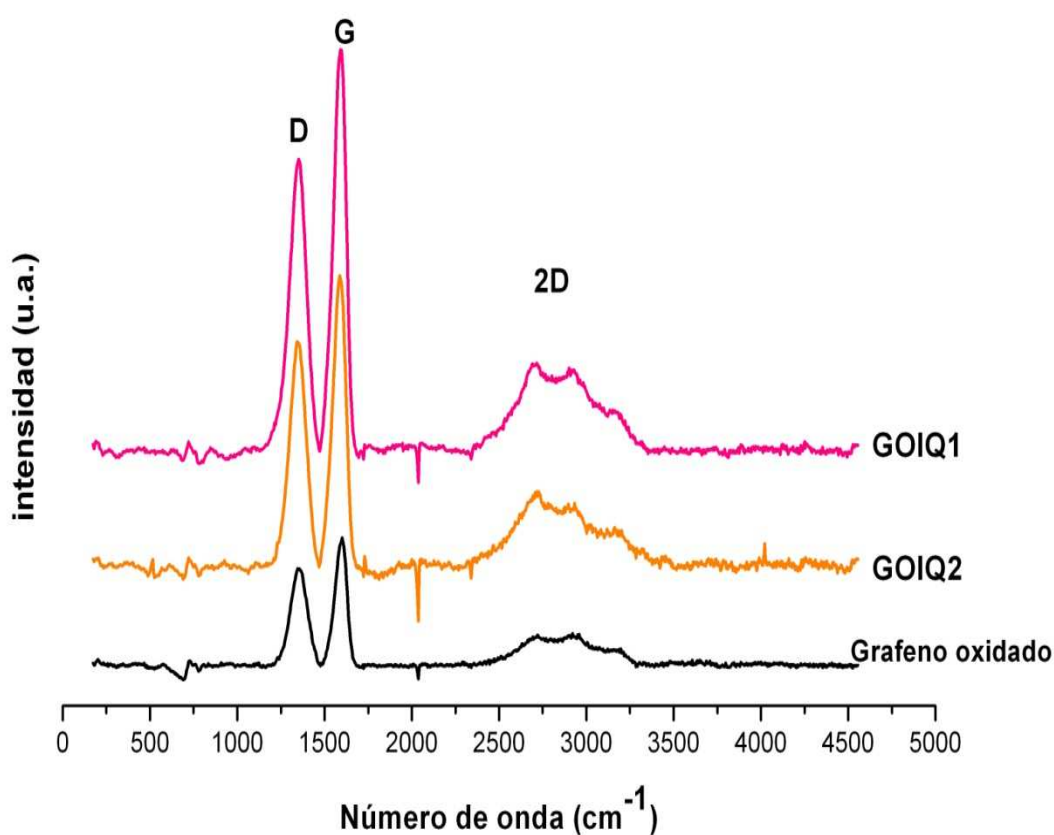


Figura 3.14 Espectros Raman de grafeno oxidado y hojas de óxido de grafeno covalentemente injertadas con queratina (GOIQ1 y GOIQ2).

3.3.4 Espectroscopia de dispersión de energía (EDS)

En los resultados de análisis elemental obtenidos por EDS, el grafito oxidado (descrito en la sección correspondiente) presenta una proporción atómica C/O de 2, mientras que las hojas de óxido de grafeno injertadas con queratina bajo las condiciones 1 y 2 (GOIQ1 y GOIQ2) revelan una proporción atómica C/O de 2.1 y 2.3 respectivamente, atribuido a la presencia de queratina (ver Figura 3.15). Además, las hojas de grafeno injertado muestran componentes

como el nitrógeno y azufre que no se encuentran presentes en el grafito oxidado [143,144]. El espécimen GOIQ1 exhibe una proporción atómica C/N de 15.1 y C/S de 282.5 y la muestra GOIQ2 presenta una relación C/N de 12.5 y C/S de 221.7. Ambos elementos son típicos de grupos presentes en las proteínas tales como amidas y grupos tioles o enlaces S-S de diferentes aminoácidos de la queratina [145].

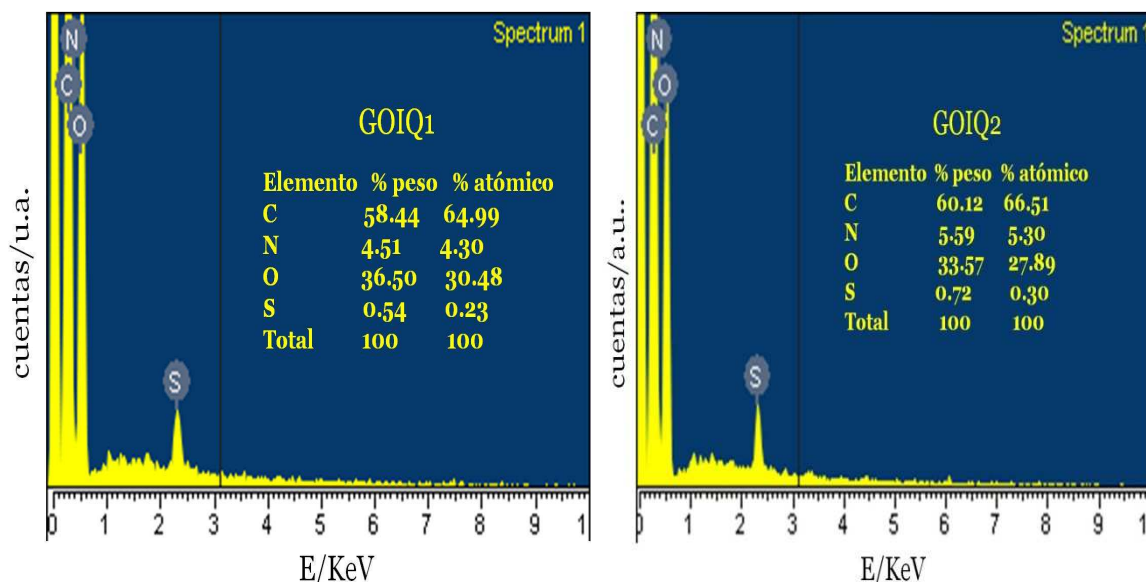


Figura 3.15 Espectros de energía dispersiva de hojas de óxido de grafeno covalentemente injertadas con queratina bajo las condiciones 1 (izquierda) y 2 (derecha) de reacción.

3.3.5 Microscopia de Fuerza Atómica (AFM)

Para estudiar el grosor y las características de la superficie del material depositado empleamos Microscopia de Fuerzas Atómicas. En la Figura 3.16 podemos observar que las hojas de óxido de grafeno injertado con queratina exhiben la presencia de material acumulado en forma de pequeños grupos. El grosor promedio de la hoja, calculado como la diferencia de alturas entre la superficie de la hoja y el sustrato de mica, es de 4.5 nm. Este valor que resulta, por mucho, mayor que el de 0.6 nm previamente reportado para el grafito oxidado. La elevada área superficial y los grupos funcionales ricos en oxígeno existentes en las hojas del grafeno explican la adhesión de la proteína y, por tanto, el incremento en el grosor es atribuido al depósito de la queratina en la superficie del óxido de grafeno.

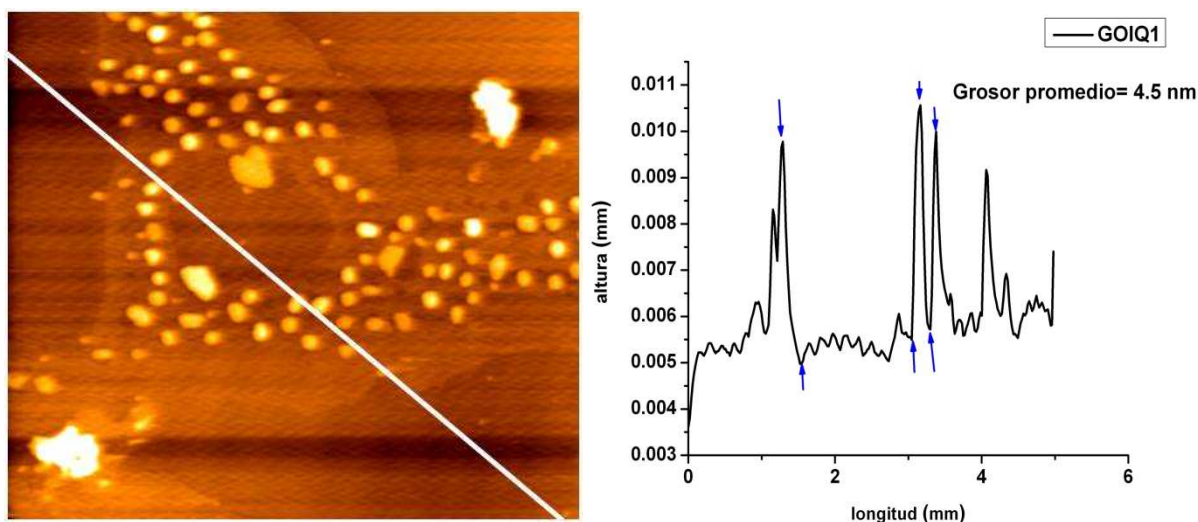


Figura 3.16 Imagen AFM de hojas de óxido de grafeno injertadas con queratina (GKGO1) depositadas sobre un sustrato de mica (izquierda) y el perfil de altura (derecha).

3.3.6 Microscopia de Transmisión Electrónica (TEM)

La morfología de las hojas de óxido de grafeno covalentemente injertadas con queratina fue examinada por TEM (ver Figura 3.17). Con propósito comparativo, la Figura 3.17 en su inciso a, expone una hoja de óxido de grafeno que se presenta como una lámina de amplias dimensiones laterales, transparente y arrugada. En la misma figura, inciso b, se muestra el grafeno oxidado injertado con queratina (GOIQ1) en el que puede observarse la presencia de hojas con una tonalidad más oscura debido a la acumulación de la proteína. Otra imagen relacionada con el injerto GOIQ1 (Figura 3.17 c) revela claramente la presencia de un gránulo de queratina unido al lado de una hoja de óxido de grafeno. Un comportamiento similar es reportado por Bourlinos et al usando el biopolímero albúmina [146]. Análogamente, el óxido de grafeno injertado con queratina bajo la condición 2 (GOIQ2) manifiesta una morfología semejante al injerto 1 (Figura 3.17 d) en donde las hojas se tornan oscuras por el apilamiento de la queratina. El inciso e, por su parte, expone una panorámica en la que claramente se aprecian hojas de queratina apiladas sobre el óxido de grafeno; éste, por su parte, se revela como una hojuela transparente, delgada, semejante a una sábana y con algunas zonas corrugadas. La magnificación que permite comparar esta imagen con el resto se señala en el inciso f. En nuestras muestras encontramos, incluso, la presencia de hojas enrolladas (Figura 3.17 g) y h) correspondientes al GOIQ1 y GOIQ2 respectivamente) las cuales adquieren esta morfología debido a que los dobleces le otorgan estabilidad a la estructura bidimensional [147].

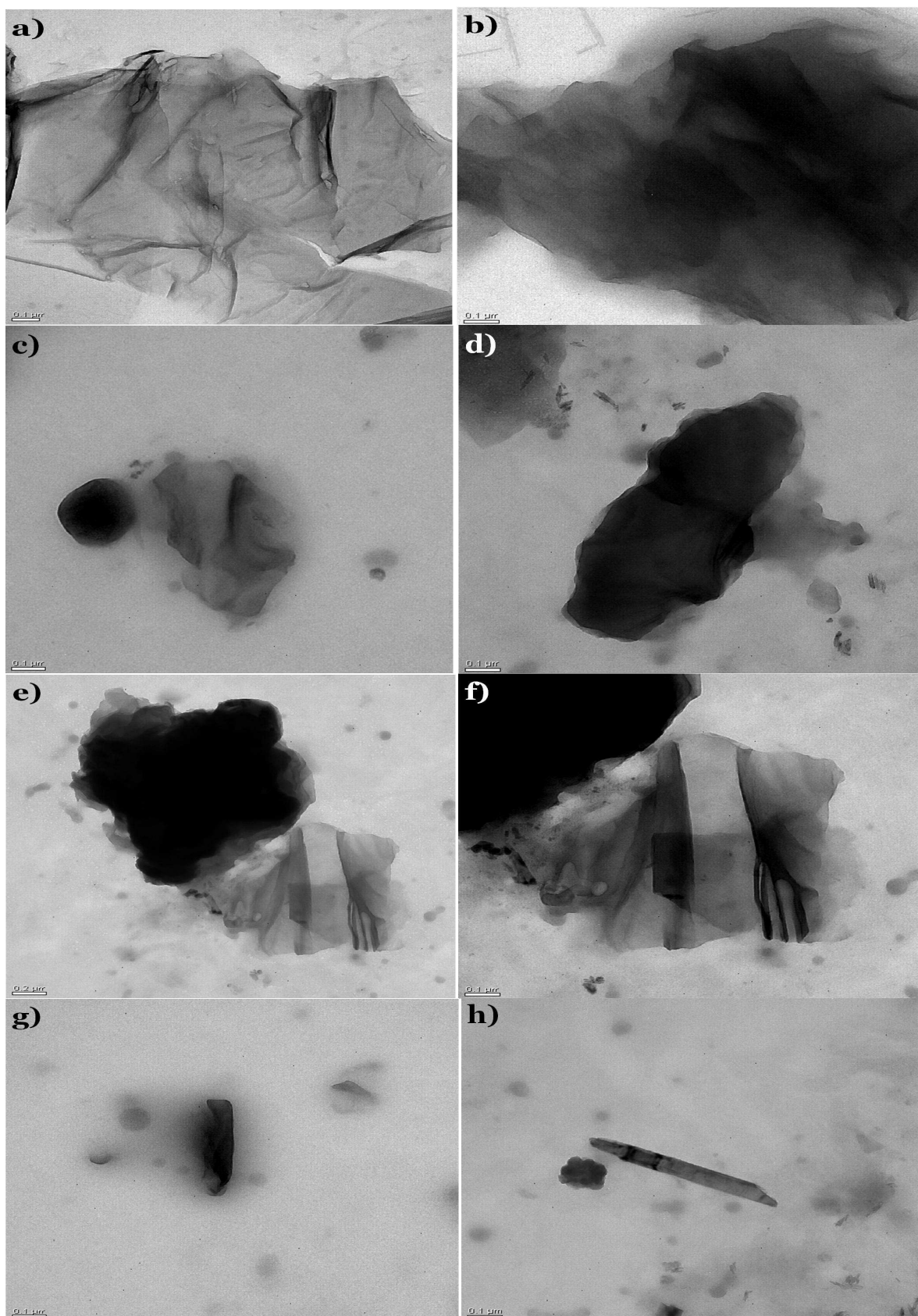


Figura 3.17 Imágenes TEM. a) Hojas de óxido de grafeno. b)-c) Hojas de óxido de grafeno injertado con queratina condición 1 (GOIQ1). d)-f) Hojas de óxido de grafeno injertado con queratina condición 2 (GOIQ2). g)-h) Hojas enrolladas de GOIQ1 y GOIQ2 respectivamente.

Con el propósito de proveer detalles más específicos de estos nanomateriales, la caracterización morfológica por HRTEM fue realizada. Las micrografías son ilustradas en la Figura 3.18.

Las imágenes HRTEM de óxido de grafeno (Figura 3.18 a-b) claramente ilustran una estructura compuesta por capas gráficas ordenadas y apiladas. En la Figura 3.18 los incisos c y d muestran imágenes relacionadas con el grafeno oxidado injertado con queratina (GOIQ1); en ellas se observa que las hojas de óxido de grafeno mantiene su estructura laminar después de la reacción de injerto, sin embargo, las láminas sufren corrugación, dobleces y enrollamiento sobre sí mismas. Las Figuras 3.18 e-h presentan algunas micrografías correspondientes al grafeno oxidado injertado con queratina bajo la condición 2 (GOIQ2). Los incisos e y f tiene por objeto presentar una panorámica en la que claramente se aprecian pequeñas partículas de queratina con diámetros que cubren un rango de 1 a 10 nm; algunas de estas partículas de proteína son señaladas mediante flechas. En la Figura 3.18 g es posible observar que los corpúsculos de proteína se adhieren, principalmente, a lo largo de la frontera de las hojas; en esta imagen se advierte, además, que láminas gráficas típicas de óxido de grafeno envuelven a las partículas de queratina y las embeben en ellas. Finalmente, la Figura 3.18 h muestra una partícula de queratina adherida a la superficie de la hoja de óxido de grafeno.

La presencia de la queratina y el doblado en si mismo de las hojas de óxido de grafeno causado por las interacciones con la proteína confirma un exitoso y nuevo injerto producido por la interacción de las cadenas poliméricas naturales en las hojas de grafeno oxidado.

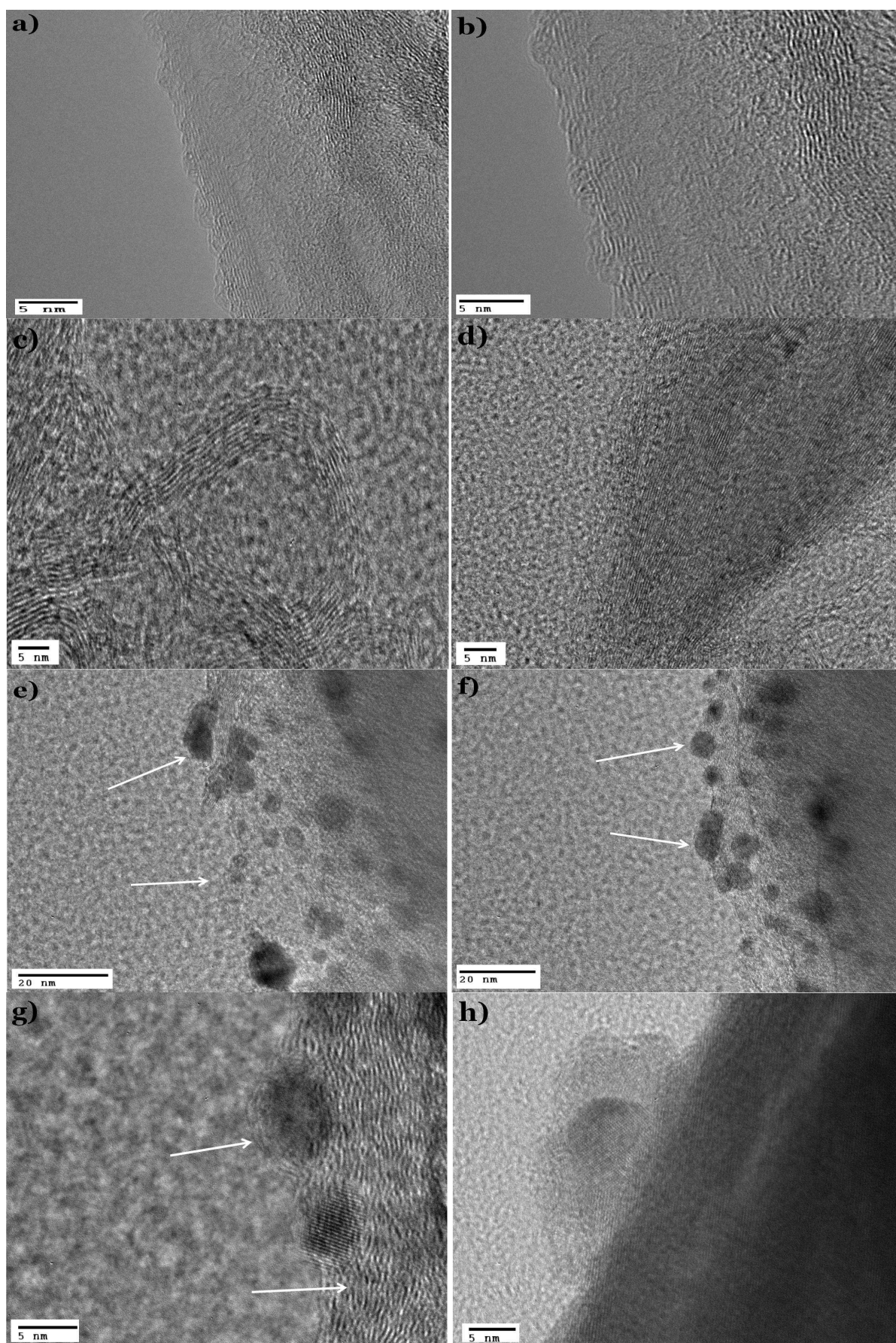


Figura 3.18 Micrografías HRTEM. a)-b) hojas de óxido de grafeno. c)-d) hojas de óxido de grafeno después de la reacción de injerto 1 (GOIQ1) e)-h) hojas de óxido de grafeno después de la reacción de injerto 2 (GOIQ2).

3.4. Cuantificación de la proteína injertada

La Figura 3.19 muestra los resultados obtenidos para la cuantificación del injerto de queratina sobre las hojas de óxido de grafeno; para ello, la curva de calibración y cuatro espectros de absorción por muestra fueron obtenidos. El primer injerto (GOIQ1) mostró una absorbencia promedio de 0.448 que corresponde a 0.726 μg de proteína. Por otro lado, el segundo injerto (GOIQ2) reportó una absorbencia promedio de 0.403 que corresponde a 0.487 μg de proteína.

La proporción de μg proteína/ μg de muestra reveló que la muestra GOIQ1 tiene 12.1% de queratina injertada y el injerto GOIQ2 presenta 7.9% lo que sugiere que la modificación en el medio ácido en el que opera la reacción produce pequeñas variaciones en la cantidad de proteína injertada.

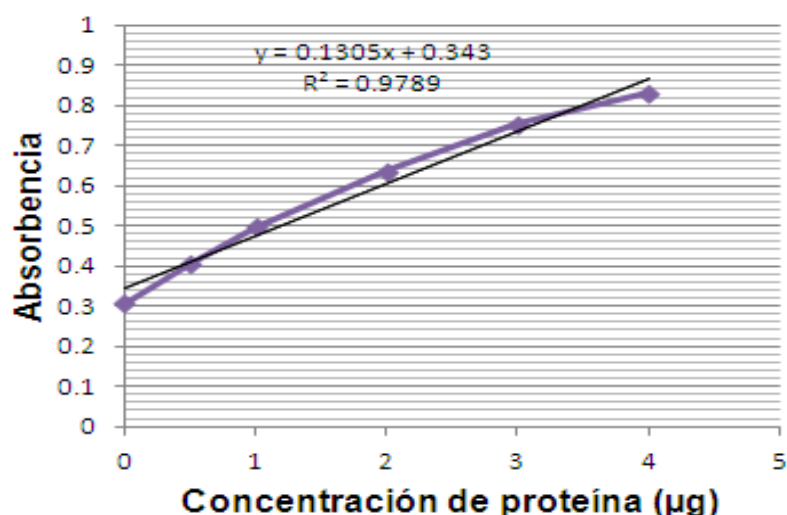


Figura 3.19 Curva de calibración para el ensayo de Bradford para cuantificar la cantidad de queratina injertada en las hojas de óxido de grafeno.

Las técnicas de caracterización, en su conjunto, permiten concluir que el injerto queratina/grafeno oxidado se produjo exitosamente. La cuantificación, por su parte, evidencia la influencia del medio de reacción en la cantidad de injerto. Las suspensiones acuosas estables y el número de grupos funcionales reactivos, proporcionados por las cadenas de la proteína de este nuevo material, permiten vislumbrar prominentes aplicaciones en el área biológica o en el desarrollo de materiales poliméricos compuestos como se discutirá a continuación.

3.5 Matrices poliméricas naturales reforzadas con grafeno oxidado y grafeno oxidado injertado con queratina

La problemática generada por el uso de polímeros sintéticos basados en la química del petróleo y su persistencia en el ambiente ha estimulado la búsqueda de materiales que presenten las mismas propiedades que aquéllos pero biodegradables. En este sentido, los biopolímeros se vislumbran como una alternativa atractiva; no obstante, algunas de sus propiedades deben ser mejoradas para posicionarlos como materiales competitivos frente a los derivados fósiles. Para superar esta deficiencia la tecnología de los nanocompositos constituye una elegante respuesta. En los nanocompositos la mejora en sus propiedades surge del tipo de nanorefuerzo utilizado y de la interacción interfacial entre éste y la matriz. Basados en este hecho el grafeno oxidado presenta hidrofiliidad, propiedades mecánicas remarcables y abundantes grupos oxigenados que pueden actuar como enlaces interfaciales. Por otra parte, estudios recientes han mostrado que las lagartijas pueden trepar superficies verticales gracias a unos dispositivos adhesivos muy eficientes denominados “setas” los cuales están constituidos por largos paquetes de queratina. En este mismo orden de ideas el grafeno oxidado injertado con queratina podría permitir explotar las propiedades adhesivas de esta proteína y hacer uso del gran número de grupos funcionales de sus cadenas para mejorar el contacto interfacial.

Basados en los hechos arriba expuestos, nosotros elegimos al almidón, el quitosano y la carboximetil celulosa como matrices debido a que estos polisacáridos son renovables, de bajo costo, no tóxicos y biodegradables. La combinación de estos biopolímeros permite mejorar algunas de sus propiedades y delinear aplicaciones tan diversas como en la industria de empaques o el área biomédica.

En esta sección, la última de este trabajo de investigación, nosotros reportamos la síntesis de nanocompositos quitosano/almidón y carboximetil celulosa/almidón reforzados con grafeno oxidado y grafeno oxidado injertado con queratina (GOIQ1 y GOIQ2). El nivel de carga del refuerzo fue de 0.1% y 0.5 % en peso para todos los casos. La simultaneidad en el estudio de ambas matrices se debe a que interesantes efectos fueron observados, dependiendo del tipo de matriz y de las interacciones interfaciales, las cuales están directamente relacionadas con la compatibilidad entre el biopolímero y el nano refuerzo.

Con la claridad como propósito, presentamos un par de tablas en las que se especifican detalles de las formulaciones de las películas y las abreviaciones utilizadas a lo largo de esta sección.

Tabla 3.1 Nomenclatura y descripción de las películas quitosano/almidón/grafeno oxidado

Identificación de la muestra	Componentes
Q/A	Quitosano y almidón
Q/A/GO1	Quitosano y almidón reforzado con grafeno oxidado a 0.1% en peso
Q/A/GO5	Quitosano y almidón reforzado con grafeno oxidado a 0.5% en peso
Q/A/GOIQ11	Quitosano y almidón reforzado con grafeno oxidado injertado con queratina condición 1 a 0.1% en peso
Q/A/GOIQ15	Quitosano y almidón reforzado con grafeno oxidado injertado con queratina condición 1 a 0.5% en peso
Q/A/GOIQ21	Quitosano y almidón reforzado con grafeno oxidado injertado con queratina condición 2 a 0.1% en peso
Q/A/GOIQ25	Quitosano y almidón reforzado con grafeno oxidado injertado con queratina condición 2 a 0.5% en peso

Tabla 3.2 Nomenclatura y descripción de las películas carboximetil celulosa/almidón/grafeno oxidado

Identificación de la muestra	Componentes
CMC/A	Carboximetil Celulosa y almidón
CMC/A/GO1	Carboximetil celulosa y almidón reforzado con grafeno oxidado a 0.1 % en peso
CMC/A/GO5	Carboximetil celulosa y almidón reforzado con grafeno oxidado a 0.5% en peso
CMC/A/GOIQ11	Carboximetil celulosa y almidón reforzado con grafeno oxidado injertado con queratina condición 1 a 0.1% en peso
CMC/A/GOIQ15	Carboximetil celulosa y almidón reforzado con grafeno oxidado injertado con queratina condición 1 a 0.5% en peso
CMC/A/GOIQ21	Carboximetil celulosa y almidón reforzado con grafeno oxidado injertado con queratina condición 2 a 0.1% en peso
CMC/A/GOIQ25	Carboximetil celulosa y almidón reforzado con grafeno oxidado injertado con queratina condición 2 a 0.5% en peso

3.5.1 Espectroscopia Infrarroja (FTIR) de las películas reforzadas Q/A y CMC/A

Los espectros infrarrojos del grafeno oxidado, la película prístina Q/A y las películas reforzadas con GO, GOIQ1 y GOIQ2 a 0.1% y 0.5% en peso son mostradas en las Figuras 3.20a y b respectivamente. Las bandas infrarrojas características encontradas en el espectro de la película prístina Q/A y los corrimientos en las bandas encontradas en los espectros de los nanocompuestos, tomando como referencia la película Q/A pura, son mostrados en la Tabla 3.3.

Los espectros infrarrojos de transformada de Fourier (FT-IR) de las películas nanocompuestas fueron obtenidos en el modo de reflectancia total atenuada (ATR) utilizando un espectrómetro (Bruker Vector 33) en un rango de longitud de onda de 4000 a 400 cm^{-1} con una resolución de 1 cm^{-1} .

En la Tabla 3.3 podemos apreciar las posiciones de las bandas que confirman corrimientos importantes en los espectros de las películas reforzadas, tomando como referencia a los espectros de la película Q/A y el grafeno oxidado. Es posible observar que las bandas que están involucradas en estos cambios están relacionadas con la ν (O-H), ν (C=O), ν (N-H), ν (C-N), y ν (C-O). Los corrimientos en la mayoría de estas bandas están asociados a la formación de enlaces de hidrógeno debido a la interacción entre el grafeno oxidado y el polímero Q/A. Estos desplazamientos pueden ser considerados como una evidencia de la participación de estas funcionalidades en la formación de interacciones interfaciales entre el grafeno oxidado y la matriz polimérica. Corrimientos similares han sido encontrados en composites almidón/grafeno oxidado indicando interacciones interfaciales.

Es importante puntualizar que los picos asociados con las vibraciones C=O y C-N son más susceptibles a sufrir desplazamiento en las películas reforzadas en comparación con las vibraciones N-H y C-O. Por otro lado, los enlaces de hidrógeno arriba detallados son incluso corroborados por los corrimientos en las vibraciones O-H las cuales se presentan en todos los espectros de las películas nanocompuestas. Estos hechos indican que las interacciones entre los nanoreforzos y la matriz polimérica son producidos en ambos: el grafeno oxidado y el grafeno oxidado injertado con queratina; mostrando, paralelamente, que las uniones que involucran las vibraciones de los grupos C=O y O-H son más influenciadas que aquellos puentes de hidrógeno que se forman con la porción N-H. Tomando estos resultados en cuenta y, debido a la naturaleza de la queratina, es posible que las películas reforzadas con grafeno

oxidado puedan producir más uniones con la matriz que las generadas por el refuerzo de grafeno injertado con queratina. El espectro FT-IR de las películas reforzadas a 0.5% en peso (Figura 3.20 b) exhiben un comportamiento similar a los espectros de las películas reforzadas a 0.1% en peso.

Tabla 3.3 Resumen de las bandas infrarrojas del grafeno oxidado, la película prístina Q/A y los nanocompositos Q/A/GO, Q/A/GOIQ11 y Q/A/GOIQ21.

Posición de las bandas [cm ⁻¹]				Asignación	Observaciones	Ref.
Q/A	Q/A/GO	Q/A/GOIQ11	Q/A/GOIQ21			
3354	3514	3514	3528	v(O-H)	Asignado a las vibraciones de este grupo unido a la cadena sacárida del almidón.	149
2922				v(C-H)	Asociado con la vibración de estiramiento del anillo de metino.	148
1647	1670	1670	1667	v(C=O)	Atribuido a la vibración del grupo amida de la porción acetilada del quitosano.	150
1588	1592	1592	1592	v(NH ₃ ⁺)	Asignado a la interacción del grupo amida I del quitosano y a los grupos hidroxilo del almidón.	148
1374	1316	1311	1341	v(C-N)	Atribuido al grupo amida III del quitosano.	148
1014	1010	1010	1010	v (C-O)	Asociado con la vibración de estiramiento de los grupos C-O en C-O-C en el almidón.	149
Posiciones de las bandas en el grafeno oxidado (cm ⁻¹)				Asignación	Observaciones	Ref
3382-3169				v (O-H)	Vinculada a la vibración de este grupo unido a los planos basales del grafeno.	151
1700				v (C=O)	Correspondiente a la vibración de los grupos carboxilos.	151
1624-1585				v (C=C)	Vinculado al carácter sp ² remanente.	151
1400				v (C-O)	Asignado a los grupos carboxilos.	151
1228				v (C-O)	Asociado a los grupos epóxicos.	151
1059				v (C-O)	Asignado a los grupos alcóxidos.	151

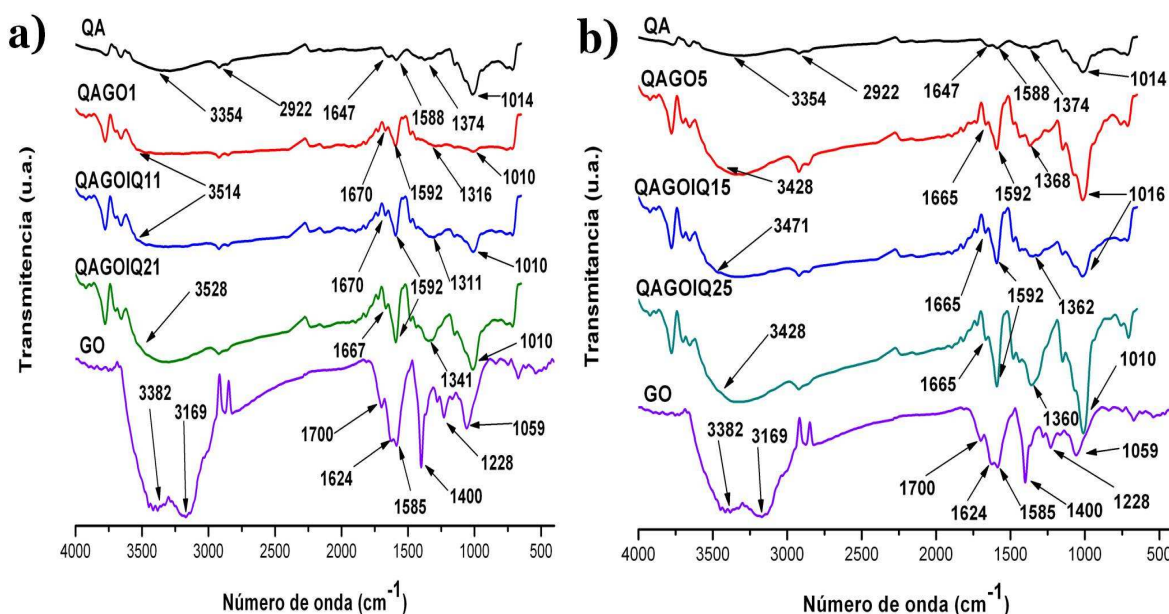


Figura 3-20 Espectro FT-IR de la película quitosano/almidón pura (Q/A), grafeno oxidado en polvo (GO) y películas reforzadas (Q/A/GO, Q/A/GOIQ1 y Q/A/GOIQ2) a (a) 0.1% en peso y (b) 0.5% en peso.

Los espectros infrarrojos del grafeno oxidado, la película prístina CMC/A y las películas reforzadas con GO, GOIQ1 y GOIQ2 a 0.1% y 0.5% en peso son mostrados en las Figuras 3.21 a y b respectivamente. Las bandas infrarrojas características encontradas en el espectro de la película prístina CMC/A y los corrimientos en las bandas encontradas en los espectros de los nanocompositos, tomando como referencia la película CMC/A pura, son mostradas en la Tabla 3.4. Las observaciones de las bandas infrarrojas del GO fueron previamente dadas en la tabla de las películas quitosano/almidón.

Basados en las posiciones de las bandas mostradas en la Tabla 3.4 es posible observar que las películas reforzadas revelan cambios notables únicamente en los picos asociados con la vibración (C=O) situada a 1366 cm^{-1} (en la película prístina CMC/A) y en las bandas relacionadas con la vibración O-H. Esto indica que posibles interacciones relacionadas con los enlaces hidrógeno incluso pueden ser encontradas en esta clase de nanocompositos. No obstante, estos espectros muestran notablemente menos evidencia en la formación de enlaces interfaciales comparados con las películas reforzadas Q/A. El espectro FT-IR de las películas reforzadas a 0.5% en peso (Figura 3.12 b) muestra posiciones similares comparadas con las bandas en las películas reforzadas a 0.1% en peso.

3.5.2 Espectroscopia Raman de las películas reforzadas Q/A y CMC/A

El espectro Raman de la película prístina Q/A y de las películas nanocompuestas a 0.1% y 0.5% en peso son presentados en las Figuras 3.22 a y b respectivamente. Las bandas Raman de la película prístina Q/A y de las películas reforzadas son mostradas en la Tabla 3.5.

El espectro Raman de las muestras fue medido en un Raman dispersivo marca Bruker modelo Senterra. La longitud del láser utilizado fue 785 nm con una potencia de 100 mW. Para cada espectro un promedio de seis barridos fue realizado con un tiempo de integración de 10 segundos sobre un rango de $80\text{-}3200\text{ cm}^{-1}$.

En la Tabla 3.5 es posible observar corrimientos notables en las bandas de los espectros de las películas nanocompuestas, tomando como referencia el espectro Raman de la película prístina Q/A. Los grupos involucrados en estos cambios están asociados a $\nu(\text{C-O-C})$ y $\delta(\text{C-O-H})$ en los nanocompositos reforzados con grafeno oxidado y $\delta(\text{C-OH})$ y a la vibración del esqueleto del quitosano para los nanocompositos conteniendo grafeno injertado con queratina. Esto corrobora los resultados arrojados por la espectroscopia infrarroja y evidencia la fuerte influencia de los enlaces de hidrógeno en la interfase de las películas reforzadas; incluso se puntualiza, nuevamente, que los grupos relacionados con la vibración C-O muestran diferentes uniones cuando la queratina está presente o no en el GO. Esta situación podría ser explicada por el hecho de que los grupos C=O y O-H en el grafeno oxidado están ocupados por la proteína injertada. Cambios encontrados en los nanocompositos a 0.5% en peso muestran la misma tendencia.

Tabla 3.5 Posiciones y asignamientos de las bandas Raman características de la película prístina Q/A y películas reforzadas con GO, GOQI1 y GOIQ2 a 0.1% en peso.

Posición de las bandas [cm ⁻¹]				Asignación	Observaciones	Ref.
Q/A	Q/A/ GO	Q/A/ GKGO11	Q/A/ GKGO21			
362		365	365	v(C-C-C)	Asignado a la vibración del esqueleto del quitosano.	155
480				v(C-O-C)	Atribuido a la vibración simétrica del anillo α -glucosa. Esta banda es el punto más característico del almidón en el espectro Raman.	156
940	936			v(C-O-C)	Asociado con la vibración de estiramiento simétrico en el enlace glicosídico α -1,4 de la amilosa.	156
1114	1110			v(C-O), v(C-O-C)	Correspondiente a la vibración simétrica de estos grupos en el enlace glicosídico.	157
	1320	1332	1332	D band	Esta banda es asignada al grafeno. Corresponde al modo de respiración de los fotones del punto κ con la simetría A1g.	158
1377	1456	1459	1459	δ (C-OH)	Atribuido a la vibración de plegado de este grupo en el almidón.	158
	1600	1597	1592	G band	Banda asignada al grafeno. Asignada a la dispersion de primer orden del fonón E2g de los átomos de C sp ² .	160
	2627			2D band	Banda atribuida al grafeno. Asociada al sobretono de la línea D.	159
2902				v(C-H)	Asignada a la vibración de este grupo en el almidón y el quitosano.	156

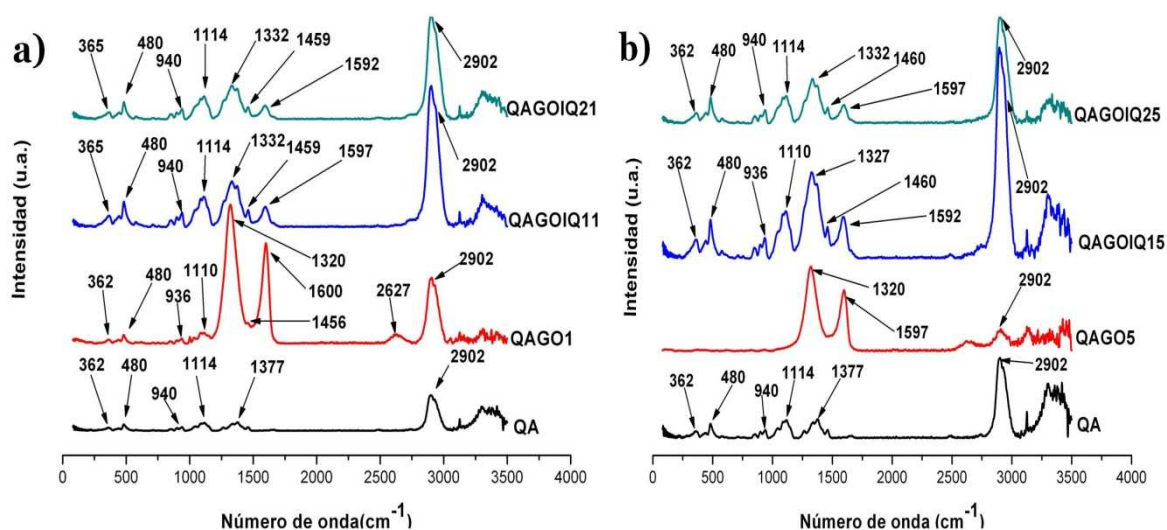


Figura 3.22 Espectros Raman de la película prístina Q/A y de las películas nanocompuestas (Q/A/GO, Q/A/GOIQ1 y Q/A/GOIQ2) (a) 0.1% en peso y (b) 0.5% en peso.

Los espectros Raman de la película prístina CMC/A y de las películas nanocompuestas a 0.1% y 0.5% en peso son presentadas en las Figuras 3.23 a y b respectivamente. Las bandas Raman características encontradas en la película prístina CMC/A y en las películas reforzadas son mostradas en la Tabla 3.6 para observar posibles cambios.

Contrario a los espectros de las películas Q/A donde desplazamientos de la banda O-H son observados, en el espectro de las películas reforzadas CMC/A solamente ligeros corrimientos son encontrados tomando como referencia el espectro CMC/A; las bandas involucradas en estos cambios están relacionadas con el esqueleto de la celulosa y los enlaces glicosídicos. Esto indica que las funcionalidades presentes en el GO podrían estar produciendo algunas interacciones en las películas poliméricas, sin embargo, es evidente que el corrimiento encontrado en las películas Q/A son más marcados que aquellos observados en los materiales de CMC/A.

Tabla 3.6 Posiciones y asignación de las bandas Raman características de la película prístina CMC/A y de las películas nanocompuestas reforzadas con GO, GOIQ1 y GOIQ2 a 0.1% en peso.

Posición de las bandas[cm ⁻¹]				Asignación	Observaciones	Ref
CMC/A	CMC/A/ GO	CMC/A/ GKGO11	CMC/A/ GKGO21			
359				v(C-C-C)	Asignado a la vibración del esqueleto de ambos polímeros.	155
480				v(C-O-C)	Atribuido a la vibración simétrica del anillo α -glucose. Esta banda es el rasgo más característico del almidón en el espectro Raman.	157
916		921		v(C-O-C)	Asociado con la vibración del esqueleto en CMC y en las uniones glicosídicas en el almidón.	154
1107				v(C-C)	Asignado a la vibración simétrica de los enlaces glicosídicos en ambos polímeros.	156
	1320	1320	1323	D band	Banda asociada con el grafeno. Corresponde al modo de respiración de los fonones en el punto κ de la simetría A _{1g} .	159
1264				v(C-O-C)	Atribuida a la vibración de estiramiento en los polímeros carboximetilados.	156
1328				δ (C-OH)	Asignada a la vibración de plegado en el almidón.	148
1412	1460	1460	1460	v(C-C-C)	Asociada a la vibración del esqueleto de la celulosa.	156
	1597	1600	1600	G band	Banda asociada al grafeno. Asignada a la dispersión de primer orden del fonón E _{2g} de los átomos de C sp ² .	160
	2620	2620	2620	2D band	Asignada al grafeno. Atribuida al sobretono de la línea D.	159
2910				v(C-H)	Asignado a la vibración de estiramiento de este grupo en ambos polisacáridos.	156

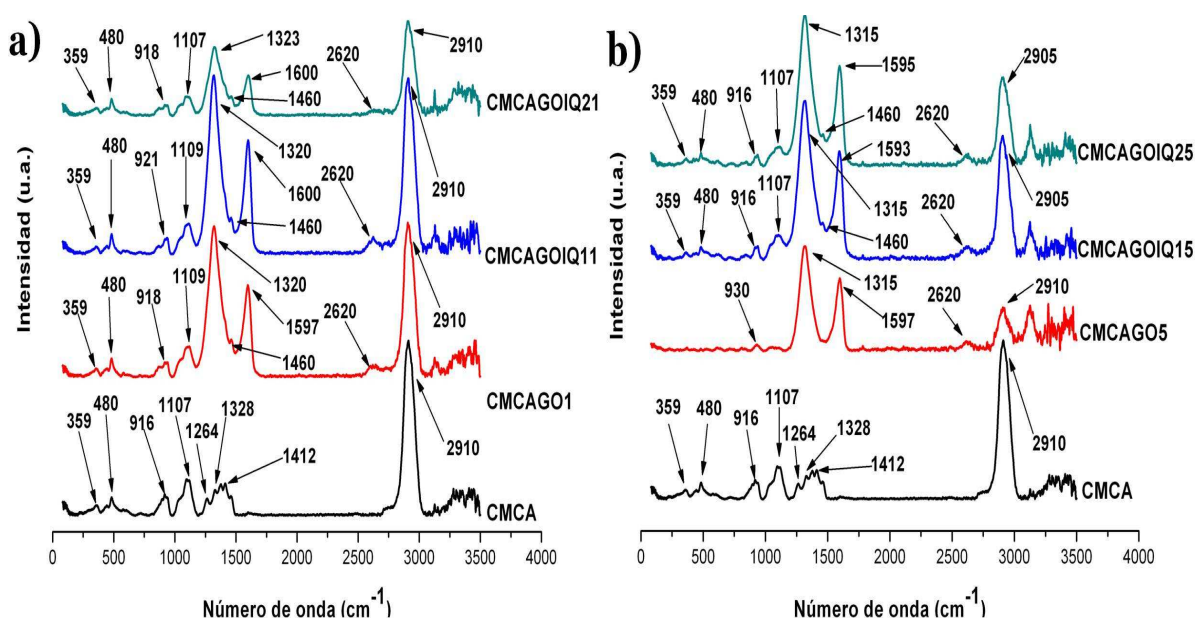


Figura 3.23 Espectros Raman de la película prístina CMC/A y películas reforzadas (CMC/A/GO, CMC/A/GOIQ₁ y CMC/A/GOIQ₂) a (a) 0.1% en peso y (b) 0.5% en peso.

3.5.3 Microscopia electrónica de barrido de los nanocompuestos Q/A y CMC/A

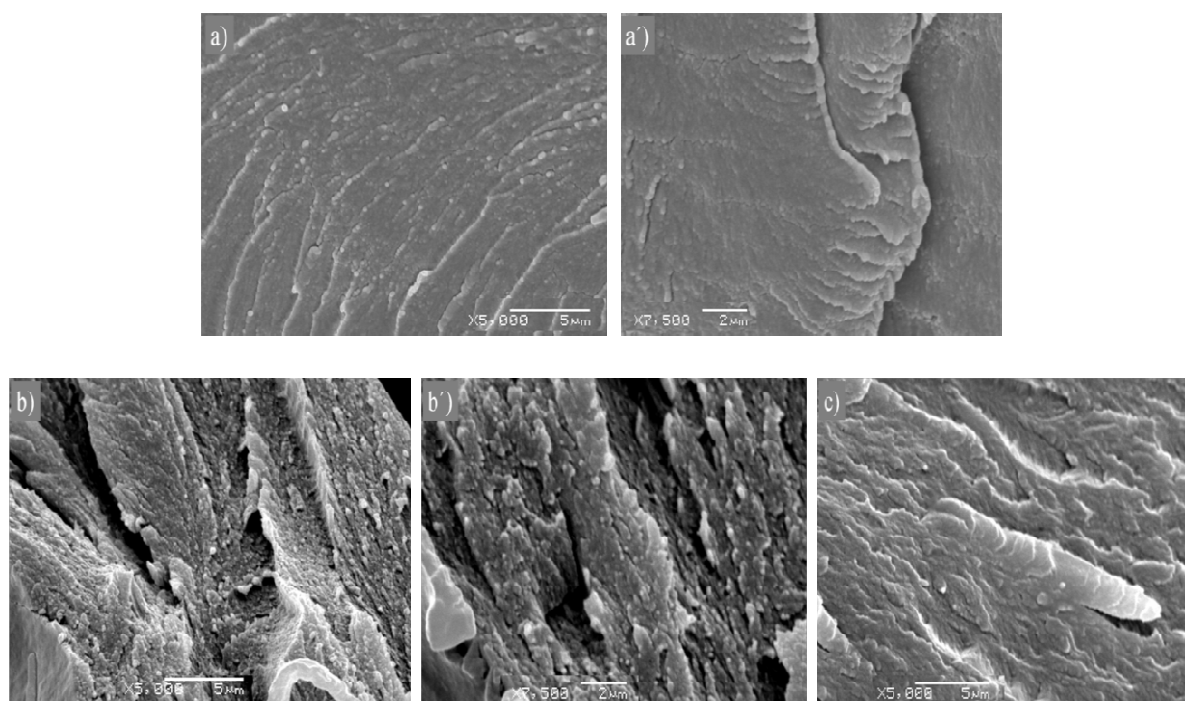
La morfología de las superficies de fractura de las películas nanocompuestas Q/A fue investigada por SEM y las micrografías son mostradas en la Figura 3.24 en dos magnificaciones para evidenciar las diferencias entre las películas reforzadas y el polímero.

Para obtener las muestras para las observaciones por microscopia electrónica de barrido (SEM marca JEOL modelo JSM-606 LV utilizando un voltaje de aceleración de 20 Kv) todas las películas fueron fracturadas en una máquina universal de pruebas de tracción. El único propósito de este procedimiento es obtener una superficie sujeta a una tensión. Las superficies de fractura fueron cubiertas con oro (utilizando un recubridor por chisporroteo EMS modelo EMS550) y posteriormente analizadas.

La sección cruzada de la película prístina Q/A (Figura 3.24 a-a') muestra una superficie homogénea, sin separación de fases entre los polisacáridos, lo cual es un indicador de una buena interacción entre los dos componentes. La sección cruzada de la película nanocompuesta Q/A/GO a 0.1% en peso (Figura 5b-b') es completamente diferente que aquella mostrada por la película pura Q/A. La superficie de fractura muestra una estructura rugosa revelando una fuerte adhesión interfacial y compatibilidad entre el GO y la matriz.

Superficies rugosas similares han sido encontradas en otros composites conteniendo grafeno indicando buena adhesión. Incluso, otros estudios recientes donde el quitosano es modificado con grafeno oxidado han encontrado una apariencia similar de esta clase de composites indicando que superficies irregulares son formadas por las hojas de óxido de grafeno cubiertas por el polímero. Debe ser observado que el grafeno produce importantes cambios en la morfología con muy bajos niveles de carga de refuerzo. Las Figuras 5c(c')-5d(d') muestran la superficie de fractura de las películas Q/A/GOIQ1 y Q/A/GOIQ2 a 0.1% en peso. La sección cruzada de las películas muestra una estructura rugosa y uniforme indicando una buena incorporación del grafeno oxidado injertado con queratina en la matriz. Las películas muestran algunas microfracturas debido al procedimiento de fractura.

De la superficie de fractura de los nanocomposites Q/A/GO a 0.5% en peso (Figura 5e-e') es posible observar que estas películas tienen una estructura estriada y muchas granulaciones indicando un comportamiento diferente respecto a la película pura. Las películas Q/A/GOIQ1 y Q/A/GOIQ2 a 0.5% en peso (Figura 5f(f')-5g(g')) muestran una superficie con esencialmente las mismas características que las películas nanocompuestas a 0.1% en peso.



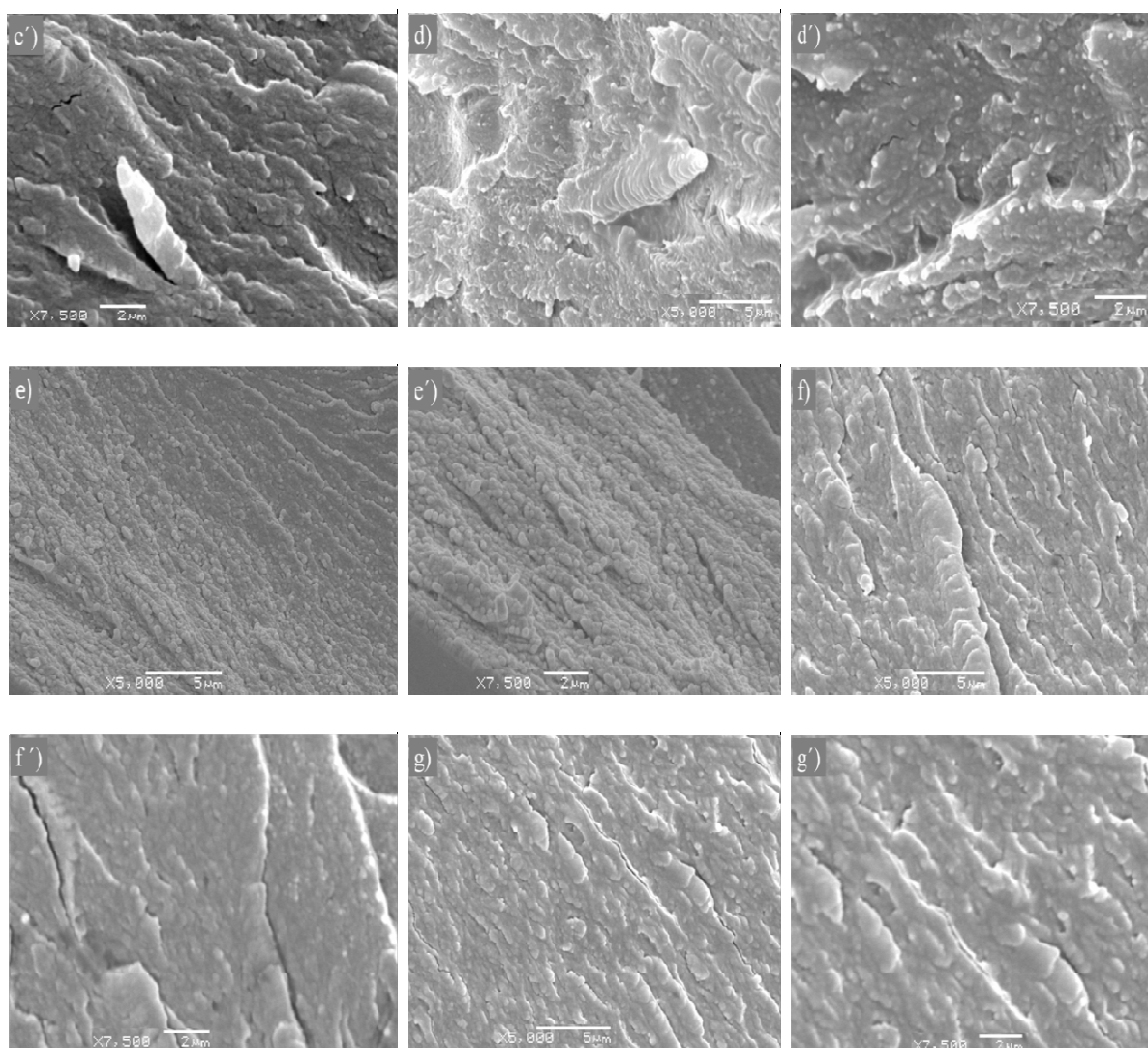


Figura 3.24 Imágenes SEM de la superficie de fractura. Sección cruzada de la película Q/A pura (a-a'), Q/A/GO a 0.1% en peso (b-b'), Q/A/GOIQ1 a 0.1% en peso (c-c'), Q/A/GOIQ2 a 0.1% en peso (d-d'), Q/A/GO a 0.5% en peso (e-e'), Q/A/GOIQ1 a 0.5% en peso (f-f') y Q/A/GOIQ2 a 0.5% en peso (g-g').

Las micrografías de la superficie de fractura de las películas nanocompuestas CMC/A son mostradas en la Figura 3.25. La sección cruzada de la película prístina CMC/A (Figura 3.25 a-a') muestra una superficie rugosa y abultada, sin separación de fases entre los polisacáridos, sugiriendo una buena interacción entre la carboximetil celulosa y el almidón. Sin embargo, la mayoría de las superficies relacionadas con las películas CMC/A/GO1, CMC/A/GO5, CMC/A/GOIQ11 y CMC/A/GOIQ15 (Figuras 6b(b')-e(e')) no muestran diferencias estructurales comparadas con la película pura indicando una pobre interacción entre los nanorefuerzos y la matriz.

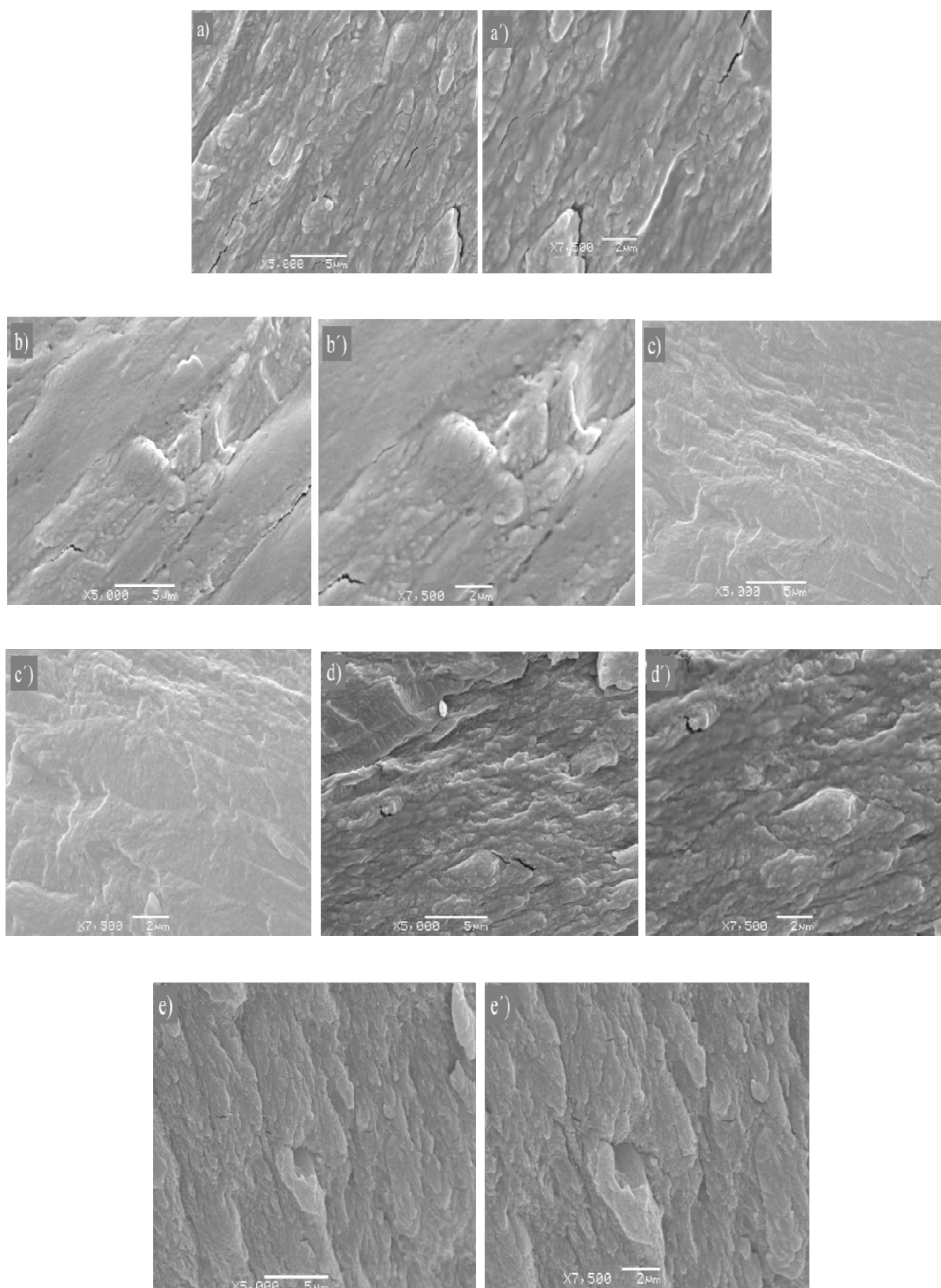


Figura 3.25 Imágenes SEM de la superficie de fractura. Sección cruzada de la película prístina CMC/A (a-a'), CMC/A/GO a 0.1% en peso (b-b'), CMC/A/GOIQ1 a 0.1% en peso (c-c'), CMC/A/GO a 0.5% en peso (d-d'), CMC/A/GOIQ a 0.5% en peso (e-e').

3.5.4 Análisis Dinámico Mecánico de los nanocompositos Q/A y CMC/A

El Análisis Dinámico Mecánico provee información acerca del comportamiento visco-elástico de un material en un rango de temperaturas. El DMA de nuestras películas (cortadas en forma rectangular con dimensiones de 20 mm de longitud y 8 mm de ancho) fue efectuado en un equipo marca TA Instruments, modelo DMA Q800, usando abrazaderas en el modo de tensión. El grosor de las películas fue medido con un micrómetro (Starrat No. 436-1 in). Tres valores de grosor fueron obtenidos a lo largo de la longitud de la cinta de la película y, el valor promedio fue 0.13 mm para las películas nanocompuestas Q/A y 0.15 mm para las películas reforzadas CMC/A. Las muestras fueron analizadas en un rango de temperatura de 30-270°C para las películas Q/A y 30-220°C para las películas CMC/A. Una velocidad de calentamiento de 3°C/min, con una frecuencia constante de 1Hz, fue aplicada. Todos los tratamientos fueron hechos en duplicado.

La Figura 3.26 muestra el módulo de almacenamiento (E') para la película prístina Q/A y las películas nanocompuestas a 0.1% en peso. Es posible observar que todas las películas muestran un módulo de almacenamiento (E') mayor comparado con la película pura Q/A. Cuando la matriz es reforzada con GO a 0.1% en peso, el módulo de almacenamiento incrementa de 196 a 767 MPa a 35°C. Conforme la temperatura incrementa, la película nanocompuesta muestra un decremento gradual en el módulo de almacenamiento mostrando un comportamiento similar que la película no reforzada Q/A. Los nanocompositos Q/A/GOIQ11 y Q/A/GOIQ21 muestran un comportamiento completamente diferente. El módulo de almacenamiento a 35°C es 322 MPa para Q/A/GOIQ11 y 252 MPa para Q/A/GOIQ21 y el módulo de almacenamiento gradualmente incrementa y obtiene un máximo en E' a 164°C y 135°C respectivamente. Ha sido previamente reportado que la película Q/A pierde agua libre alrededor de los 100°C y hay más interacciones con los grupos hidroxilos del agua libre que con los grupos amino en esta clase de polímeros. Estos hechos podrían explicar los efectos observados en E' en el DMA. Debido a que a más alta temperatura hay una pérdida de grupos OH pertenecientes al agua libre en las películas Q/A este hecho permite suponer que existe una mayor interacción entre los grupos OH unidos al polímero y los grupos amino en la queratina.

Esta sugerencia es incluso soportada por la naturaleza hidrofóbica de la queratina pues mientras más agua libre es eliminada existe la posibilidad de producir uniones entre los grupos hidrofóbicos en la queratina con las cadenas poliméricas y por tanto un incremento en

la rigidez es obtenida; adicionalmente el supuesto está de acuerdo con los resultados IR y Raman donde los nanocompositos reforzados con grafeno injertado con queratina muestran interacciones en los grupos amida y los nanocompositos con GO muestran evidencia de interacciones en las porciones C=O y OH. Este hecho incluso explica los altos módulos de almacenamiento de Q/A/GO a 35 °C. Tal comportamiento indica que el GO y el grafeno oxidado injertado con queratina interactúan de manera diferente con la matriz. Como previamente fue mencionado, las diferentes interacciones entre los nanorefuerzos y la matriz producen un importante efecto sinérgico a diferentes temperaturas.

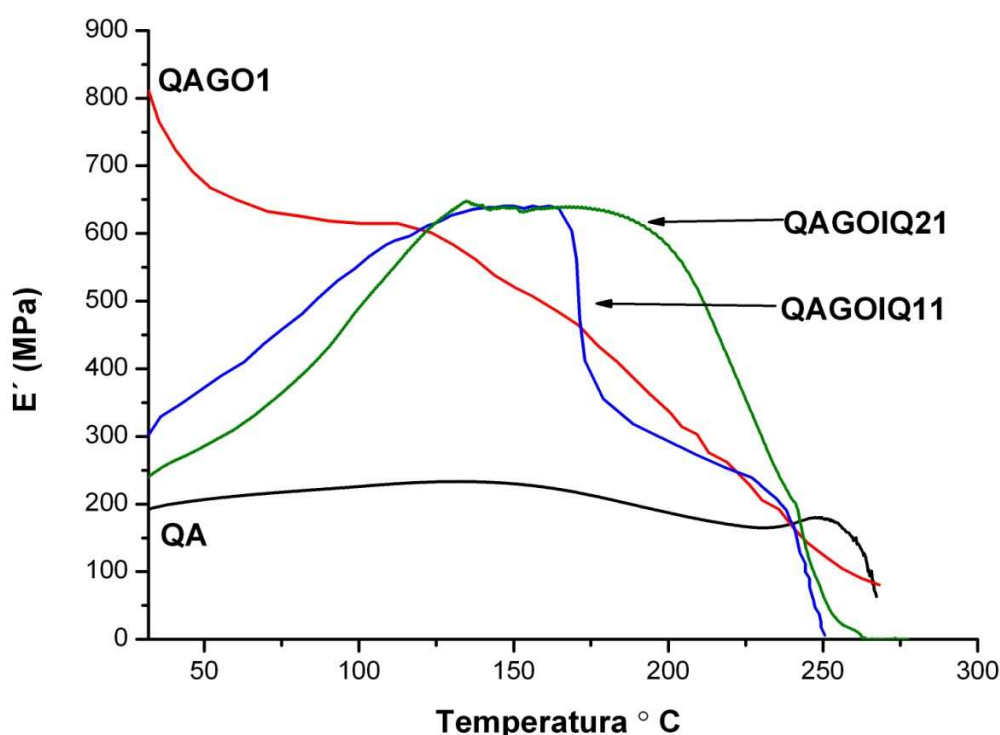


Figura 3.26 Temperatura versus módulo de almacenamiento dinámico (E') de la película pura Q/A y de las películas nanocompuestas Q/A/GO, Q/A/GOIQ11 y Q/A/GOIQ21.

La Figura 3.27 muestra el módulo de almacenamiento (E') para la película pura Q/A y para los nanocompositos a 0.5% en peso. Como puede ser observado el comportamiento de las películas nanocompuestas es más uniforme comparado con las muestras reforzadas a 0.1% en peso. En este caso el módulo de almacenamiento es substancialmente mejorado con el incremento en el contenido del nanorefuerzo GO. Cuando la matriz fue reforzada con GO el módulo de almacenamiento se incrementó de 193 a 2033 MPa a 35 °C. Conforme la temperatura incrementa la película Q/A/GO muestra un decremento gradual típico en el

módulo de almacenamiento. Para las películas Q/A/GOIQ15 y Q/A/GOIQ25 el módulo de almacenamiento a 35 °C es 796 MPa y 467 MPa, respectivamente. En contraste con su contraparte reforzada a 0.1% en peso el módulo de almacenamiento gradualmente decrece a temperaturas más altas, sugiriendo que un contenido más alto de nanorefuerzo injertado puede modificar las interacciones interfaciales debido a la naturaleza hidrofóbica de la queratina.

El módulo de almacenamiento dinámico ha sido mejorado en un amplio rango de temperaturas para todos los nanocompositos, sin embargo, la película Q/A/GO muestra una importante mejora respecto a la película pura. Esta mejora en las propiedades mecánicas sugiere una buena distribución del GO y del grafeno injertado con queratina en la matriz así como un buen contacto interfacial el cual incluso está de acuerdo con los resultados encontrados por la espectroscopia infrarroja y Raman.

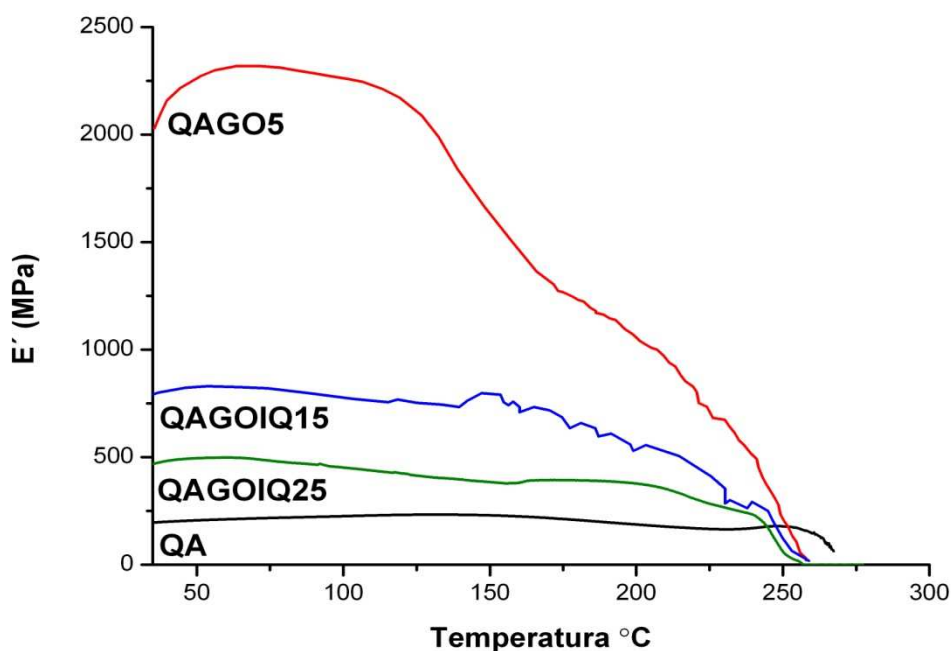


Figura 3.27 Temperatura vs módulo de análisis dinámico (E') de la película Q/A pura y de las películas compuestas Q/A/GO, Q/A/GOIQ15 y Q/A/GOIQ25.

La temperatura vs el módulo de almacenamiento para la película pura Q/A y las películas nanocompuestas a 0.1% y 0.5% en peso son presentadas en la Figura 3.28. Claramente, las propiedades termomecánicas de estas películas nanocompuestas son totalmente diferentes comparadas con las películas Q/A. Mientras en las películas Q/A la adhesión de los nanorefuerzos mejoró significativamente el módulo de almacenamiento in las películas CMC/A el módulo decreció. Cuando la matriz CMC/A fue reforzada con GO a 0.1% en peso (Figura 3.28a) el grosor decreció. E' decreció de 1255 MPa a 784 MPa comparado con la

película pura CMC/A y el mismo efecto es observado con las películas CMC/A/GOIQ11 y CMC/GOIQ21. El módulo de almacenamiento a 35°C para CMC/A/GOIQ11 es 965 MPa y 774 MPa para CMC/A/GOIQ21.

El módulo de almacenamiento es parcialmente recuperado con el incremento en el contenido de nanorefuerzo. Las películas reforzadas CMC/A/GO a 0.5% en peso (Figura 3.28 b) muestran un E' a 35 °C de 1126 MPa. Las películas CMC/A/GOIQ15 y CMC/A/GOIQ25 tienen un módulo de almacenamiento ligeramente más alto comparado con la película CMC/A/GO, sin embargo, a más alta temperatura, las películas son menos rígidas. Estos resultados indican que el GO produce un efecto diferente dirigido a un incremento en E' para las películas Q/A y un decremento en E' para las películas CMC/A, lo cual concuerda con las pocas interacciones encontradas en las espectroscopias IR y Raman y los cambios morfológicos no significativos encontrados en SEM.

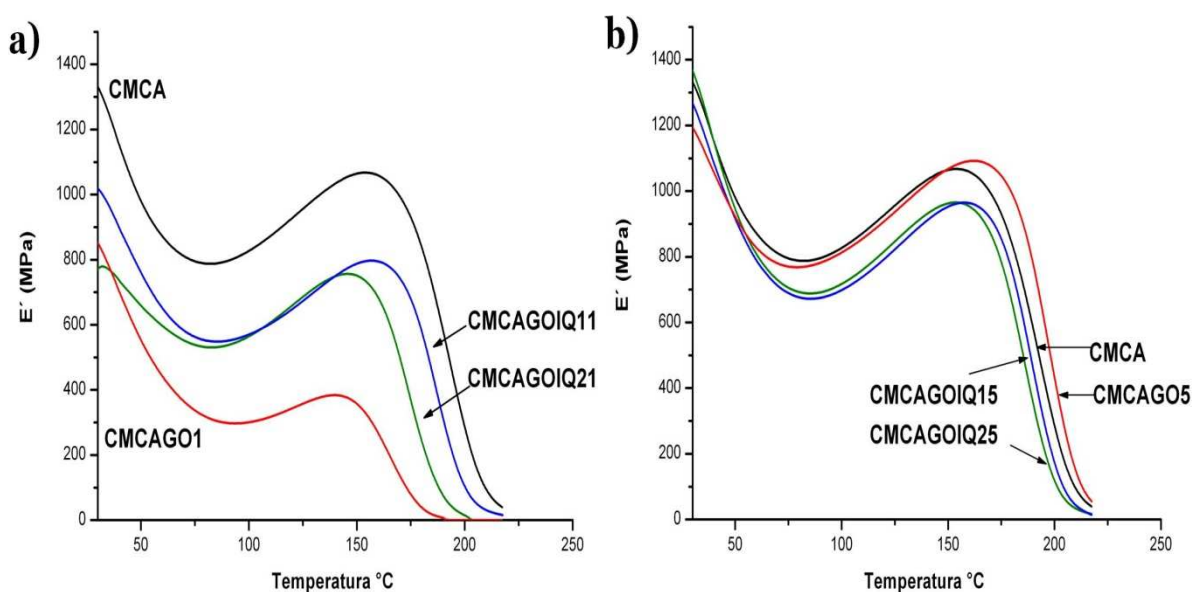


Figura 3.28 (a) Temperatura vs el módulo de almacenamiento para la película pura CMC/A y las películas nanocompuestas CMC/A/GO1, CMC/A/GOIQ11 y CMC/A/GOIQ21. (b) Temperatura vs el módulo de almacenamiento de la película prístina y las películas nanocompuestas al 0.5% en peso.

Este comportamiento exhibe la importancia de la compatibilidad entre el grafeno oxidado y la matriz polimérica para manipular las propiedades finales del material.

CAPÍTULO 4

Conclusiones y recomendaciones

Conclusiones

- Las hojas de óxido de grafeno fueron sintetizadas exitosamente a partir de grafito oxidado mediante el método de Hummers modificado.
- Las hojas de óxido de grafeno fueron modificadas covalentemente con la queratina extraída de la pluma de pollo. La espectroscopia Infrarroja del grafeno modificado con la queratina ilustra la presencia de bandas asociadas con la vibración de las amidas. La espectroscopia Raman muestra cambios en las bandas asociadas con la hibridación sp^2 en los materiales de carbono que, conjuntamente con el ensanchamiento en la banda 2D, son una clara evidencia de injerto.
- La modificación de la superficie del grafeno oxidado mediante el injerto del biopolímero produjo cambios claros en la morfología. Las hojas injertadas están curvadas y tiene propensión al doblado. Es posible que la tendencia de las proteínas a autoensamblarse produzcan estos pliegues sobre las hojas.
- El sistema de reacción redox en medio ácido fue efectivo para la generación de radicales libres sobre las cadenas de queratina que promueven la formación de enlaces. Los pequeños cambios en el ácido málico y en el medio ácido producen pequeñas variaciones en la cantidad de proteína injertada.
- La cuantificación de la queratina en el grafeno modificado es un método útil para verificar la presencia de las cadenas de la proteína sobre la estructura de carbón. Adicionalmente las microscopias revelaron la presencia de queratina embebida en las capas de grafeno y el aumento en el grosor de la hoja permitió corroborar el injerto.
- El grafeno modificado con queratina muestra una buena dispersión en medio acuoso lo que aumenta su capacidad de procesamiento.
- Los nanocompositos poliméricos quitosano/almidón y carboximetil celulosa/almidón reforzados con grafeno y grafeno oxidado injertado con queratina fueron exitosamente sintetizados mediante el método moldeado/evaporación del solvente.

- Los resultados mostraron que únicamente los nanocompositos quitosano/almidón tuvieron un buen contacto interfacial con sus refuerzos. Esta efectividad en la dispersión del refuerzo se manifestó en la mejora de las propiedades termomecánicas.
- Los espectroscopia Infrarroja mostró que la película quitosano/almidón/grafeno oxidado sufrió corrimientos significativos en las bandas asociadas con las vibraciones O-H, C=O y C-N, mientras que funcionalidades como N-H y C-O tuvieron solo cambios ligeros. Esto indica que la formación de puentes de hidrógeno prevalece en las primeras funcionalidades y por ello hay una mayor interacción con el grafeno oxidado en comparación con el grafeno modificado con queratina en el que los enlaces N-H son predominantes.
- Los resultados de la espectroscopia Raman confirman lo encontrado en infrarrojo así como la fuerte influencia de los enlaces hidrógeno en el contacto interfacial. La microscopia electrónica de barrido manifiesta cambios estructurales en las películas asociadas con una buena interacción con el refuerzo (quitosano/almidón).
- Los resultados del DMA de las películas quitosano/almidón muestran elevados módulos con refuerzos como el grafeno oxidado. En el caso del grafeno oxidado injertado el aumento en el módulo se da con la evaporación del agua libre.
- Los nanocompositos carboximetil celulosa/almidón no mostró desplazamientos significativos en las posiciones de sus bandas infrarrojas o Raman indicando que la formación de enlaces interfaciales no se vio favorecida en esta matriz. No hubo cambios estructurales y el análisis dinámico mecánico de las películas con refuerzo reporto valores de E' por debajo de los de la matriz pura.
- Estos resultados demuestran la importancia de la compatibilidad entre la matriz y el refuerzo para lograr un contacto interfacial efectivo y con ello un diseño adecuado de las propiedades finales del material.

Recomendaciones

- Realizar otro tipo de caracterizaciones a los materiales aquí sintetizados. Creemos que sería de utilidad emplear la Espectroscopia Fotoelectrónica de Rayos X (XPS) y la Espectroscopia Ultravioleta-Visible (UV-Vis).
- Utilizar el grafeno oxidado y el grafeno oxidado injertado covalentemente con queratina como refuerzos en otras matrices poliméricas naturales.
- Funcionalizar la superficie del grafeno oxidado con alguna molécula que permita un reforzamiento efectivo sobre la matriz carboximetil celulosa/almidón.

Referencias

- [1]Canham, G. R. (2000) *Química Inorgánica descriptiva*, 2.^a ed., Pearson Prentice Hall, México, pp. 257-258.
- [2]Pierson, H. O. (1993) *Handbook of carbon, graphite, diamond and fullerenes Properties, Processing and Applications*, Noyes Publications, U.S, pp.11-13.
- [3]Chang, R. (2002) *Química*, 7.^a ed., Mc Graw Hill, Colombia, pp. 385-396.
- [4]Beiser, A. (1977) *Conceptos de física moderna*, 2.^a. ed., Mc Graw Hill, México, pp. 266-269.
- [5]Setton, R., Bernier, P., & Lefrant, S. (2002) *Carbon molecules and materials*, Taylor & Francis, New York, pp.17-18.
- [6]Poole, C. P., & Owens, F. J. (2003) *Introducción a la nanotecnología*, Reverté, España, pp. 118-120.
- [7]O'Connell, M. J. (2006) *Carbon nanotubes properties and applications*, Taylor & Francis, U.S.A., pp. 1-7.
- [8]Imágenes obtenidas de las páginas web: www.neoteo.com y <http://flagellum.wordpress.com/2011/06/13/circuitos-integrados-con-grafeno>.
- [9]Rodríguez-González, C.; Kharissova, O. V. Propiedades y aplicaciones del grafeno. *Ingenierías* **2008**, 11, 17-23.
- [10]Castro Neto, A. H.; Guinea, F.; Peres, N. M. R.; Novoselov, K. S., Geim, A. K. The electronic properties of graphene. *Reviews of modern physics* **2009**, 81, 109-111.
- [12]Imagen obtenida de la página web: www.abc.es
- [13]Geim, A. K. Graphene: Status and Prospects. *Science* **2009**, 324, 1530-1534.
- [14]Castro Neto, A. H.; Guinea, F.; Peres, N. M. R.; Novoselov, K. S., Geim, A. K. The electronic properties of graphene. *Reviews of modern physics* **2009**, 81, 109-111.
- [15]Cooper, D. R.; D'Anjou, B.; Ghattamaneni, N.; Harack, B.; Hilke, M.; Horth, A.; Majlis, N.; Massicotte, M.; Vandsburger, L.; Whiteway, E.; and Yu, V. Experimental review of graphene. *ArXIV*: 1110.6557.
- [16]Imágenes obtenidas de la página web: <http://la-mecanica-cuantica.blogspot.mx/2009/08/el-enlace-molecular.html>
- [17]Callister, W.D. (2007) *Materials science and engineering: an introduction*. 7.^a ed. Jhon Wiley & Sons Inc., U.S.A., pp. 665-715.
- [18]Carmona, J.G.; Vozmediano, M. A. H.; Guinea, F. Electrónica del grafeno. *Investigación y ciencia* **2010**, 42-49.
- [19]Castro Neto, A. H. The carbon new age. *Materials today* **2010**, 13, 12-17.

- [20]Neto, A. C.; Guinea, F.; Peres, N. M. Drawing conclusions from graphene. *Physics World* **2006**, 1-5.
- [21]Geim, A. K. Novoselov, K. S. The rise of graphene. *Nature* **2007**, 6, 183-191.
- [22]Gago, J. A. M.; Llorente, C. B.; Junquera, E. C.; Domingo, P. A. S. Unidad Didáctica Nanociencia y Nanotecnología: Entre la ciencia ficción del presente y la tecnología del futuro. FECYT.
- [23]Ballesteros, M. N. S. (2009) *Tecnología de proceso y transformación de materiales*, 2,^a ed., Ediciones UPC, pp. 37-38.
- [24]Pereira, V. M.; Neto, A. H. C. A tight-binding approach to uniaxial strain in graphene. *Physical Review B* **2008**, 80, 1-8.
- [25]Lee, C.; Wei, X.; Kysar, J. W.; Hone, J. Measurement to the Elastic Properties and Intrinsic Strength of Monolayer Graphene. *Science* **2008**, 321, 385-388.
- [26]Compiled by the Class for Physics of the Royal Swedish Academy of Sciences. Graphene. Scientific background on the Nobel Prize in Physics **2010**, 8.
- [27]Balandin, A. A.; Ghosh, S.; Bao, W.; Calizo, I.; Teweldbrhan, D.; Miao, F.; Lau, C. N. Superior Thermal Conductivity of Single-Layer Graphene. *Nano Letters* **2008**, 8, 902-907.
- [28]Peigney, A.; Laurent, Ch.; Flahaut, E.; Bacsá, R. R.; Rousset, A. Specific surface area of carbon nanotubes and bundles of carbon nanotubes. *Carbon* **2001**, 39, 507-514.
- [29]Loh, K. P.; Bao, Q.; Ang, P. K.; Yang, J. The chemistry of graphene. *J. Mater. Chem.*, **2010**, 20, 2277-2289.
- [30]Yoona, H. J.; Junb, D. H.; Yanga, J. H.; Zhouc, Z.; Yangb, S. S.; Chenga, M. M. Carbon dioxide gas sensor using a graphene sheet. *Sensors and Actuators B* **2011**, 157, 310-313.
- [31]Pearce, R.; Iakimov, T.; Andersson, M.; Hultman, L.; Lloyd Spetz, A.; Yakimova, R. Epitaxially grown graphene based gas sensors for ultra sensitive NO₂ detection. *Sensors and Actuators B* **2011**, 155, 451-455.
- [32]Recent advances in graphene-based biosensors Kuilaa, T.; Bosea, S.; Khanraa, P.; Mishrab, A. K.; Kimc, N. H.; Leea, J. H. *Biosensors and Bioelectronics* **2011**, 26, 4637- 4648.
- [33]Materials. The graphene challenge. *Chemistry World* **2008**.
- [34]Prasher, R. Graphene Spreads the Heat. *Science* **2010**, 328, 185-186.

- [35]Grande^a, L.; Chundia, V. T.; Weib^b, D.; Bower^b, C.; Andrew^b, P.; Ryhänen^b, T. Graphene for energy harvesting/storage devices and printed electronics. *Particuology* **2012**, 10, 1–8.
- [36]Jang, B. Z.; Zhamu, A. Processing of nanographene platelets (NGPs) and NGP nanocomposites: a review. *J. Mater. Sci* **2008**, 43, 5092-5101.
- [37]Kelsall, R. W., Hamley, I. W., & Geoghegan, M. (2005) *Nanoscale Science and Techonology*, Wiley, Gran Bretaña, pp.32-33.
- [38]Cao, G. (2006) *Nanoestructures & Nanomaterials Synthesis, Properties & Applications*, Imperial College Press, U.S.A., pp.7-9.
- [39]Kim, H; Abdala, A. A; Macosko, C. W. Graphene/Polymer Nanocomposites. *Macromolecules Perspective* **2010**, 43, 6515-6530.
- [40]Li, D.; Kaner, B. Graphene- Based Materials. *Science* **2008**, 320,1170-1171.
- [41]Hummers, W. S.; Offeman, R. E. Preparation of graphitic oxide. Contribution from the broid division, national lead company **1958**, 1339.
- [42]Stankovich, S.; Piner, R. D.; Chen, X.; Wu, N.; Nguyen, S. T.; Ruoff, R. S. Stable aqueous dispersions of graphitic nanoplatelets *via* the reduction of exfoliates graphite oxide in the presence of poly(sodium 4-styrenesulfonate). *J. Mater. Chem.* **2006**, 16, 155-158.
- [43]Stankovich, S.; Piner, R. D.; Nguyen, S. T.; Ruoff, R. S. Synthesis and exfoliation of isocyanate-trated graphene oxide nanoplatelets. *Carbon* **2006**, 44, 3342-3347.
- [44]Stankovich, S.; Dikin, D. A.; Piner, R. D.; Kohlhaas, K. A.; Kleinhammes, A.; Jia, Y.; Wu, Y.; Nguyen, S. T.; Ruoff, R. S. Synthesis of graphene-based nanosheets via chemical reduction of exfoliated graphite oxide. *Carbon* **2007**, 45, 1558-1565.
- [45]Paredes, J. I.; Rodil, S. V.; Alonso, A. M.; Tascóm, J. M. D. Graphene oxide dispersions in organic solvents. *Langmuir* **2008**, 24, 10560-10564.
- [46]Li, D.; Müller, M. B.; Gilje, S.; Kaner, R. B.; Wallace, G. G. Processable aqueous dispersions of graphene nanosheets. *Nature Nanotechnology* **2008**, 3,101-105 (2008).
- [47]Shen, J.; Hu, Y.; Shi, M.; Li, N.; Ma, H.; Ye, M. On Step Synthesis of Graphene Oxide-Magnetic Nanoparticules Composite **2010**, 114, 1498-1503.
- [48]Szabó, T.; Berkesi, O.; Forgó, P.; Josepovits, K.; Sanakis, Y.; Petridis, D.; Dékány, I. Evolution of surface functional groups in a series of progressively oxidized graphite oxides. *Chem. Mater.* **2006**, 18, 2740-2749.
- [49]He, H.; Klinowski, J.; Forster, M.; Lerf, A. A new structural model for graphite oxide. *Chemical Physics Letters* **1998**, 287, 53-56.

- [50]Dreyer, D. R.; Park, S.; Bielawski, C. W.; Ruoff, R. S. The chemistry of graphene oxide Chem. Soc. Rev., **2010**, 39, 228–240.
- [51]Compton, O. C.; Nguyen, S. T. Graphene oxide, highly reduced graphene oxide, and graphene: versatile building blocks for carbon-based materials **2010**, small, 6, 711-723.
- [52]Park, S.; Ruoff, R. S. Chemical methods for the production of graphenes. Nature nanotechnology **2009**, 4, 217-224.
- [53]Bourlinos, A. B.; Gournis, D.; Petridis, D.; Szabó, T.; Szeri, A.; Dékány, I. Graphite oxide: Chemical reduction to graphite and surface modification with primary aliphatic amines and amino acids. Langmuir **2003**, 19, 6050-6055.
- [54]Wang, G.; Yang, J.; Park, J.; Gou, X.; Wang, B.; Liu, H.; Yao, J. Facile synthesis and characterization of graphene nanosheets. J. Phys. Chem. **2008**, 112, 8192-8195.
- [55]Si, Y.; Samulski, E. T. Synthesis of water soluble graphene. Nanoletters **2008**, 8, 1679-1682.
- [56]Gilje, S.; Han, S.; Wang, M.; Wang, K. L.; Kaner, R. B. A chemical route to graphene for device applications. Nano letters **2007**, 7, 3394-3398.
- [57]Park, S.; An, J.; Jung, I.; Piner, R. D.; An, S. J.; Li, X.; Velamakanni, A.; Ruoff, R. S. Colloidal Suspensions of Highly Reduced Graphene Oxide in Wide Variety of Organic Solvents. Nano Letters **2009**, 9, 1593-1597.
- [58]Park, S.; An, J.; Piner, R. D.; Jung, I.; Yang, D.; Velamakanni, A.; Nguyen, S. T.; Rodney, S. R. Aqueous suspension and characterization of chemically modified graphene sheets. Chem. Mater. **2008**, 20, 6592-6594.
- [59]Eda, G.; Fanchini, G.; Chhowalla, M.; Large-area ultrathin films of reduced graphene oxide as a transparent and flexible electronic material. Nature nanotechnology **2008**, 3, 270-274.
- [60]Xu, Y.; Bai, H.; Lu, G.; Li, C.; Shi, G. Flexible graphene films via the filtration of water soluble noncovalent functionalized graphene sheets. J. Am. Chem. Soc. **2008**, 130, 5856-5857.
- [61]Wang, G.; Shen, X.; Wang, B.; Yao, J.; Park, J. Synthesis and characterization of hydrophilic and organophilic graphene nanosheets. Carbon **2009**, 47, 1359-1364.
- [62]Williams, G.; Seger, B.; Kamat, P. V. TiO₂-Graphene nanocomposites UV assisted photocatalytic reduction of graphene oxide. ACS Nano **2008**, 7, 1487-1491.

- [63] Paredes, J. I.; Villar-Rodil, S.; Fernández-Merino, M. J.; Guardia, L.; Martínez-Alonso, A.; Tascón, J. M. D. Environmentally friendly approaches toward the mass production of processable graphene from graphite oxide. *J. Mater. Chem.* **2011**, 21, 298-306.
- [64] Schniepp, H.; Luen, J.; McAllister, M. J.; Sai, H.; Alonso, M. H.; Adamson, D. H.; Prud'homme, R. K.; Car, R.; Saville, D. A.; Aksay, I. A. Functionalized single graphene sheets derived from splitting graphene oxide. *Journal of physical chemistry B letters* **2006**, 110, 8535-8539.
- [65] McAllister, M. J.; Li, J. L.; Adamson, D. H.; Schniepp, H. C.; Abdala, A. A.; Liu, J.; Alonso, M. H.; Milius, D. L.; Car, R.; Prud'homme, R. K.; Aksay, I. A. Single sheet functionalized graphene by oxidation and thermal expansion of graphite. *Chem. Mater.* **2007**, 19, 4393-4404.
- [66] Osváth, Z.; Darabont, Al.; Incze, P. N.; Hórvath, E.; Hórvat, Z. E.; Biró, L. P. Graphene layers from thermal oxidation of exfoliated graphite plates. *Carbon* **2007**, 45, 3022-3026.
- [67] Subrahmanyam, K. S.; Vivekchand, S. R. C.; Govindaraj, A.; Rao, C. N. R. A study of graphenes prepared by different methods: characterization, properties and solubilization. *J. Mater. Chem.* **2008**, 18, 1517-1523.
- [68] Soldano, C.; Mahmood, A.; Dujardin, E. Production, properties and potential of graphene. *Carbon* **2010**, 48, 2127-2150.
- [69] Wu, D.; Zhang, F.; Liu, P.; Feng, X. Two-Dimensional Nanocomposites Based on Chemically Modified Graphene. *Chem. Eur. J.* **2011**, 17, 10804-10812.
- [70] Dreyer, D. R.; Park, S.; Bielawski, C. W.; Ruoff, R. S. The chemistry of graphene oxide. *Chem. Soc. Rev.*, **2010**, 39, 228-240.
- [71] Loh, P.; Bao, Q.; Ang, P. K.; Yang, J. The chemistry of graphene. *J. Mater. Chem.*, **2010**, 20, 2277-2289.
- [72] Sahoo, N. G.; Rana, S.; Cho, J. W.; Li, L.; Chan, S. H. Polymer nanocomposites based on functionalized carbon nanotubes. *Progress in polymer science* **2010**, 35, 837-867.
- [73] Tasis, D.; Tagmatarchis, N.; Bianco, A.; Prato, M. Chemistry of carbon nanotubes. *Chem. Rev.* **2006**, 106, 1105-1136.
- [74] Shan, C.; Yang, H.; Han, D.; Zhang, Q.; Ivaska, A.; Niu, L. Water-Soluble Graphene Covalently Functionalized by Biocompatible Ploy-L-lysine. *Langmuir* **2009**, 25, 12030-12033.

- [75] Xu, Y.; Bai, H.; Lu, G.; Li, C.; Shi, G. Flexible Graphene Films via the Filtration of Water-Soluble Noncovalent Functionalized Graphene Sheets. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, 130, 5856-5857.
- [76] Sun, X., Liu, Z., Welsher, K.; Robinson, J. T.; Goodwin, A.; Zaric, S.; Dai, H. Nano-Graphene Oxide for Cellular Imaging and Drug Delivery. *Nano Research* **2008**, 1, 203-212.
- [77] Park, S.; Dikin, D. A.; Nguyen, S. T.; Ruoff R. S. Graphene Oxide Sheets Chemically Cross-Linked by Polyallylamine. *J. Phys. Chem. C.* **2009**, 113, 15801-15804.
- [78] Wade, L. G. (1993) *Química Orgánica*, 2.^a ed., Pearson educación, México, pp. 69, 84-91, 308.
- [79] Nelson, D. L., Cox, M. M. (2000) *Lehninger principios de bioquímica*, 3^a.ed., Ediciones omega, España, pp. 69-73.
- [80] Hernández, A. L. M.; Santos, C. V.; de Icaza, M.; Castaño, V. M. Microstructural characterisation of keratin fibers from chicken feathers. *Int. J. Environmental and Pollution* **2005**, 23, 162-178.
- [81] Fraser, R. D. B., Mac Rae, T. P., & Rogers, G. E. (1972) *Keratins Their Composition Structure and Biosynthesis*, Charles C. Thomas, U.S.A, pp. 64-65.
- [82] Mercer, E. H. (1961) *Keratin and Keratinization An Essay in Molecular Biology*, Pergamon Press, Londres, pp. 1-5.
- [83] Prum, R. O.; Brush, A. H. The evolutionary origin and diversification of feathers. *The Quarterly Review of Biology* **2002**, 7, 290.
- [84] Imagen obtenida de la página web:
<http://wdict.net/es/word/estructura+primaria+de+las+prote%C3%ADnas/>
- [85] Toni, M.; Valle, L. D.; Alibardi, L. Hard (Beta-)Keratins in the Epidermis of Reptiles: Composition, Sequence, and Molecular Organization. *J. Proteome Res.* **2007**, 6, 3377-3392.
- [86] Smith, W. F. (2004) *Ciencia e ingeniería de materiales*, 3^a. ed., Mc Graw Hill, México, pp. 372.
- [87] Askeland, D. R. (1998) *Ciencia e ingeniería de los materiales*, 3^a. ed., Interantional Thomson Editores, México, pp. 508.
- [88] Stankovich, S.; Dikin, D. A.; Dommett, G. H. B.; Kohlhaas, K. M.; Zimney, E. J.; Stach, E. A.; Piner, R. D.; Nguyen, S. T.; Ruoff, R. S. Graphene-based composite materials. *Nature* **2006**, 442, 282-286.
- [89] Ramanathan, T.; Abdala, A. A.; Stankovich, S.; Dikin, D. A.; Alonso, M. H.; Piner, R. D.; Adamson, D. H.; Schniepp, H. C.; Chen, X.; Ruoff, R. S.; Nguyen, S. T.; Aksay,

I. A.; Prud'homme, R. K.; Brinson, L. C. Functionalized graphene sheets for polymer nanocomposites. *Nature* **2008**, 3, 327-331.

[90]Kuila, T.; Bhadra, S.; Yao, D.; Kim, N. H.; Bose, S.; Lee, J. H. Recent advances in graphene based polymer composites. *Progress in polymer science* **2010**, 35, 1350-1375.

[91]Chivrac, F.; Pollet, E.; Avérous, L. Progress in nanobiocomposites based on polysaccharides and nanoclays. *Mater.Sci.Eng., R.* **2009**, 67, 1-17.

[92]Visakh, P. M.; Thomas, S. Preparation of Biomaterials and their Polymer Nanocomposites from Waste and Biomass. *Waste Biomass Valor* **2010**, 1, 121-134.

[93]Imagen obtenida de la pagina web: http://www.uib.es/facultat/ciencies/prof/josefa.donoso/campus/modulos/modulo6/modulo6_7.htm

[94]Imagen obtenida de la pagina web: <http://bioinfo-btg09-grupo05.wikispaces.com/1.+INTRODUCCI%C3%93N>

[95]Imagen obtenida de la página web: <http://www.bionova.org.es/biocast/p1i3.htm>

[96]Harper, C. A. (2004) *Handbook of plastics, elastomers & composites*, 4a. ed., Mc Graw Hill, pp.1-4.

[97]Imagen obtenida de la página web: <http://www.conocimientotextil.com/2010/05/telas-resistentes-las-arrugas.html>

[98]Jiang, L.; Li, Y.; Zhang, L.; Wang, X. Preparation and characterization of a novel composite containing carboxymethyl cellulose used for bone repair. *Materials Science and Engineering C* **2009**, 29, 193-198.

[99]Imagen obtenida de la página web: www.wikipedia.org

[100]Chivrac, F.; Pollet, E.; Avérous, L. Progress in nanobiocomposites based on polysaccharides and nanoclays. *Materials Science and Engineering* **2009**, 67, 1-17.

[101]Kumar, M. N. V. R. A review of chitin and chitosan applications *Reactive & Functional Polymers* **2000**, 46, 1-27.

[102]Dikin, D.A.; Stankovich, S.; Zimney, E. J.; Piner, R. D.; Dommett, G. H. B.; Evmenenko, G.; Nguyen, S. T.; Ruoff, R. S. Preparation and characterization of graphene oxide paper. *Nature letters* **2007**, 448, 457-460.

[103]Schrooyen, P. M. M.; Dijkstra, P. J.; Oberthür, R. C.; Bantjes, A.; Feijent, J. Stabilization of Solutions of Feather Keratins by Sodium Dodecyl Sulfate. *Journal of Colloid and Interface Science* **2001**, 240, 30-39.

- [104]Schrooyen, P. M. M.; Dijkstra, P. J.; Oberthür, R. C.; Bantjes, A.; Feijent, J. Partially Carboxymethylated Feather Keratins. 1. Properties in Aqueous Systems. *J. Agric. Food Chem* **2000**, 48, 4326-4334.
- [105]Hernández, A. L. M.; Santos, C. V.; de Icaza, M.; Castaño, V. M. Grafting of methyl methacrylate onto natural keratin. *e-Polymers* **2003**, 16.
- [106]Hernández, A. L. M. Chemical modification of keratin biofibres by graft polymerization of methyl methacrylate using redox initiation. *Materials Research Innovation* 2008.
- [107]Tesis de doctorado sobre la funcionalización de nanotubos de carbono. Marisol Cortés Alegría.
- [108]Pingoud, A., Urbanke, C., & Hoggett, J. *Biochemical Methods*
- [109]Bradford, M. M. A Rapid and Sensitive Method for the quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. *Analytical Biochemistry* **1976**, 72, 248-254.
- [110]Freund, J. E., Miller, I., & Miller, M. (2002) *Estadística matemática con aplicaciones*, Pearson educación, México, 474-477.
- [111]Mathew, S.; Brahmakumar, M.; Abraham, T. E. Microstructural Imaging and Characterization of the Mechanical, Chemical, Thermal, and Swelling Properties of Starch-Chitosan Blend Films. *Biopolymers* 2006, 82, 176-187.
- [112]Wade, L. G. (1993) *Química Orgánica*, 2.^a ed., Pearson educación, México, pp. 479-486.
- [113]Cao, G. (2006) *Nanostructures & Nanomaterials Synthesis, Properties & Applications*, Imperial College Press, U.S.A., pp.347-348.
- [114]Silverstein, R. M., Webster, F. X., & Kiemle, D. J. (2005) *Spectrometric identification of organic compounds*, 7.^a ed., John Wiley and Sons New York, pp. 72-75.
- [115]Smith, B. (1999) *Infrared spectral interpretation. A systematic Approach*. CRC Press, U.S.A., pp. 1-28.
- [116]Smith, B. (1996) *Fundamentals of Fourier Transform Infrared Spectroscopy*. CRC Press, U.S.A., pp. 87-124.
- [117]Pelletier, M. J. (1999) *Analytical Applications of Raman Spectroscopy*. Blackwell Science, U.S.A., pp. 1-8, 224.

- [118]Skoog, D. A., Holler, F. J., & Nieman, T. A. (2001) *Principios de análisis instrumental*, 5.^a ed., España, Mc Graw Hill, pp. 463-469.
- [119]Kelsall, R. W., Hamley, I. W., & Geoghegan, M. (2005) *Nanoscale Science and Technology*, Wiley, Gran Bretaña, pp.69-90.
- [120]Nin, G. V., & Martínez, O. M. E. (2000) *Introducción a la microscopia electrónica aplicada a las ciencias biológicas*, Fondo de cultura económica, México, pp. 17-53.
- [121]Bozzola, J. J., & Russell, L. D. (1992) *Electron Microscopy Principles and Techniques for Biologists*, 2.^a ed., Jones and Bartlett publishers, Canada, pp. 163.
- [122]Zhou, W., & Wang, Z. L. (2006) *Scanning Microscopy for Nanotechnology Techniques and Applications*, Springer, U.S.A., pp. 1-9.
- [123]Menczel, J. D., & Prime, R. B. (2009) *Thermal Analysis of Polymers Fundamentals and Applications*, Wiley, U.S.A., pp.1, 387-400.
- [124]Menard, K. P. (1999) *Dynamic Mechanical Analysis: a practical introduction*, CRC, U.S.A., pp. 2-14.
- [125]Foreman, J. Dinamical Mechanical Analysis of Polymers American Laboratori **1997** pp. TA236-1,2,3.
- [126]Gilje, S.; Han, S.; Wang, M.; Wang, K. L.; Kaner, R. B. A chemical route to graphene for device applications. Nano letters **2007**, 7, 1-6. Supporting Information.
- [127]Cao, G. (2006) *Nanostructures & Nanomaterials Synthesis, Properties & Applications*, Imperial College Press, U.S.A., pp. 331-332.
- [128]Smith, W. F. (2004) *Ciencia e ingeniería de materiales*, 3.^a ed., Mc Graw Hill, México, pp.79-86.
- [128]Yang, X.; Tu, Y.; Li, L.; Shang, S.; Tao, X. Well dispersed chitosan/graphene oxide nanocomposites. Applied materials & interfaces 2010, 2, 1707-1713.
- [129]Bozzola, J. J., & Russell, L. D. (1992) *Electron Microscopy Principles and Techniques for Biologists*, 2.^a ed., Jones and Bartlett publishers, Canada, pp. 212.
- [130]Zhou, W., & Wang, Z. L. (2006) *Scanning Microscopy for Nanotechnology Techniques and Applications*, Springer, U.S.A., pp. 135.
- [131]Park, S.; An, J.; Jung, I.; Piner, R. D.; An, S. J.; Li, X.; Velamakanni, A.; Ruoff, R. S. Colloidal Suspensions of Highly Reduced Graphene Oxide in Wide Variety of Organic Solvents. Nano letters **COMP REF** pp. 1-11. Supporting Information.

- [132]Park, S.; An, J.; Piner, R. D.; Jung, I.; Yang, D.; Velamakanni, A.; Nguyen, S. T.; Rodney, R. S. Aqueous suspension and characterization of chemically modified graphene sheets. *Chem. Mater.* **2008**, 20, pp. 1-9. Supporting Information.
- [133]Wangqi, D.; Wang, X. Preparation of graphite oxide (GO) and the thermal stability of silicone rubber/GO nanocomposites. *Thermochimica acta* **2012**, 529, pp. 25-28.
- [134]Wojtoniszaka, M.; Chena, X.; Kalenczuka, J. R.;Wajdab, A.; Łapczukb, J.; Kurzewskib, M.; Drozdzikb, M.; Chuc, K. P.;Borowiak-Palena, E. Synthesis, dispersion, and cytocompatibility of graphene oxide and reduced graphene oxide. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* **2012**, 89, pp. 79-85.
- [135] Shen, J.; Yan, Bo.; Shi, M.; Ma, H.; Li, N.; Ye, M. One step hydrothermal synthesis of TiO₂-reduced graphene oxide sheets. *J. Mater. Chem.* **2011**, 21, pp.3415-3421.
- [136]Zhao, X.; Zhang, Q.; Chen, D. Enhanced Mechanical Properties of Graphene-Based Poly(vinyl alcohol)Composites. *Macromolecules* **2010**, 43, pp. 2357-2363.
- [137]Wang, F.; Zhang, K. Reduced graphene oxide–TiO₂ nanocomposite with high photocatalytic activityfor the degradation of rhodamine B. *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*, **2011**, 345, pp.101–107.
- [138]Yanwu Zhu , Shanthi Murali , Weiwei Cai , Xuesong Li , Ji Won Suk , Jeffrey R. Potts, Rodney S. Ruoff. Graphene and Graphene Oxide: Synthesis, Properties,and Applications. *Adv. Mater.* **2010**, 22, 3906-3924.
- [139]Liu, Y.; Yan, C.; Liu Y. Investigation on fluorescence quenching of dyes by graphite oxide and graphene. *Applied Surface Science* **2011**, 257 2011 5513–5518.
- [140]Paredes, J.I.; Villar-Rodil, S.; Martínez-Alonso, A.; Tascón, J. M. D. Graphene oxide dispersions in organic solvents. *Langmuir* **2008**, 24, 10560-10564.
- [141] ParedeS, J. I. Villar-Rodil, S; Martínez Alonso, A. Graphene solubility. *Langmuir* 2007, 21,33345-3349.
- [142]Shen, J.; Shi, M.; Yan, B.; Ma, H.; Li, M.; Hu, Y.; Ye, Y. Covalent attaching protein to graphene oxide via diimide-activated amidation. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* **2010**, 81, 434–438.
- [143]Shan C.; Yang, H.; Han, D.; Zhang, Q.; Ivaska, A.; Niu, L. Water-soluble Graphene Covalently Functionalized by Biocompatible Poly-L-lysine. *Langmuir* **2009**, 25, 12030-12033.

- [144]Park, S.; Dikin, D. A.; Nguyen, S. T.; Ruoff, R. S. Graphene oxide sheets chemically cross-linked by polyallylamine. *J. Phys. Chem. C*, **2009**, 113, 15801–15804.
- [145]A. L. Martínez-Hernandez, A. L. Santiago-Valtierra, and M. J. Alvarez-Ponce. Chemical modification of keratin biofibres by graft polymerisation of methyl methacrylate using redox initiation. *Materials Research Innovations* **2008**, 12, 184–191.
- [146]Bourlinos, A. B.; Georgakilas, V.; Zboril, R.; Steriotis, T. A. Stubos, A. K.; Trapalis, C. Aqueous phase exfoliation of graphite in the presence of polyvinylpyrrolidone for the production of water-soluble graphenes. *Solid State Communications* **2009**, 149, 2172–2176.
- [147]Shen, J.; Yan, B.; Shi, M.; Ma, H.; Li, N.; Ye, M. Synthesis of graphene oxide-based biocomposites through diimide-activated amidation. *Journal of Colloid and Interface Science* **2011**, 356, 543–549.
- (148)Mathew. S.; Brahmakumar, M.; Abraham, T. E. Microstructural Imaging and Characterization of the Mechanical, Chemical, Thermal, and Swelling Properties of Starch-Chitosan Blend Films. *Biopolymers* **2006**, 82, 176–187.
- [149] Rodríguez-González, C.; Kharissova, O. V.; Martínez-Hernández, A. L.; Castaño, V. M.; Velasco-Santos, C. Graphene oxide sheets covalently grafted with keratin obtained from chicken feathers. Submitted to *J. Nanopart. Res.* 2012.
- [150]Xiong, H.; Tang, S.; Tang, H.; Zou, P. The structure and properties of a starch-based biodegradable film. *Carbohydr. Polym.* **2008**, 71, 263–268.
- [151]Brian, Smith. *Infrared Spectral Interpretation. A systematic Approach*; CRC Press: Florida, 1999.
- [152]Han, D.; Yan, L.; Chen, W.; Li, W. Preparation of chitosan/graphene oxide composite film with enhanced mechanical strength in the wet state. *Carbohydr. Polym.* **2011**, 83, 653–658.
- [153]Park, S.; Lee, K. S.; Bozoklu, G.; Cai, W.; Nguyen, S. T.; Ruoff R. S.; Graphene Oxide Papers Modified by Divalent Ions-Enhancing Mechanical Properties via Chemical Cross-Linking. *ASC Nano* **2008**, 2, 572–578.
- [154]Changhua, R. L.; Ma, J. Studies on the properties of graphene oxide- reinforced starch biocomposites. *Carbohydr. Polym.* **2011**, 84, 631–637.
- [155]Lii, C.; Tomasik, P.; Zaleska, H.; Liaw, S.; Lai, V. M. F. Carboxymethyl cellulose-gelatin complexes. *Carbohydr. Polym.* **2002**, 50, 19–26.

- [156]Yuen, N. S.; Choi, S.M.; Phillips, D. L.; Ma, C. Y. Raman and FTIR spectroscopic study of carboxymethylated non-starch polysaccharides. *Food Chem.* **2009**, 114, 1091-1098.
- [157]Thygesen, L. G.; Løkke, M. M.; Micklander, E.; Engelsen, S. B. Vibrational microspectroscopy of food. Raman vs. FT-IR. *Trends Food Sci. Technol.* **2003**, 14, 50-57.
- [158]Zhanga, K.; Peschel, D.; Helm, J.; Groth, T.; Fischer, S. FT Raman investigation of novel chitosan sulfates exhibiting osteogenic capacity. *Carbohydr. Polym.* **2010**, 83, 60-65.
- [159]Pelletier, M. J. *Analytical Applications of Raman Spectroscopy*; Blackwell Science: Michigan, 1999.
- [160]Passauer, L.; Bender, H.; Fischer, S. Synthesis and characterisation of starch phosphates. *Carbohydr. Polym.* **2010**, 82, 809-814.
- parallel aligned graphene oxide. *Carbohydr. Polym.* **2011**, 83, 1908-1915.